



Escola de Camins
Escola Tècnica Superior d'Enginyeria de Camins, Canals i Ports
UPC BARCELONATECH

Diseño y aplicación de sistemas bioelectroquímicos para la optimización de la gestión de humedales construidos

Treball realitzat per:

Manuel Barbero del Río

Dirigit per:

Jaume Puigagut Juarez

Màster en:

Enginyeria Ambiental

Barcelona, 14 de Junio de 2019

TREBALL FINAL DE MÀSTER

Resumen

Las pilas microbianas son dispositivos que generan corriente eléctrica gracias a la oxidación de materia orgánica en presencia de un gradiente redox entre sus electrodos. Durante los últimos años se ha avanzado exponencialmente en el uso de esta tecnología, pero hay elementos que por su elevado coste limitan su aplicabilidad. Entre ellos, destacan las membranas de intercambio de protones, necesarias para generar el gradiente redox en las pilas microbianas convencionales.

En este trabajo se construyeron pilas microbianas de bajo coste y materiales provenientes de reutilización, que fueron instaladas en humedales construidos donde el flujo de materia orgánica es constante y el gradiente redox se produce de forma natural. El diseño, se enfocó hacia una mejora en la capacidad de bio-indicación y se potenciaron aspectos como la facilidad de uso y montaje en una instalación real. Se diseñó además un adquisidor de datos para ser utilizado en conjunto con estas, utilizando hardware-software libre. Ambos elementos se emplearon para llevar a cabo dos experimentos donde se demostró la aplicabilidad de dos técnicas innovadoras de monitorización.

El primer experimento consistió en la utilización de las pilas microbianas para analizar la distribución del agua residual a través del humedal. Para ello, se instalaron 27 pilas microbianas en zonas representativas del volumen total de un humedal a escala piloto. Mediante los datos de producción eléctrica de las pilas, se construyó un modelo hidrodinámico con resultados muy prometedores, que tendrá que ser validado mediante un estudio de trazadores.

En el segundo experimento, se evaluó la capacidad de bio-indicación de las pilas microbianas utilizando la capacitación eléctrica del biofilm. La operación de pilas microbianas mediante una técnica intermitente de apertura-cierre del circuito eléctrico, permitió medir la carga eléctrica acumulada en el biofilm en la fase en la que el circuito permanecía abierto. Esta carga acumulada se relacionó con la concentración de materia orgánica presente en el agua, obteniéndose correlaciones altas ($R^2 = 0.90 - 0.99$) que permiten validar esta técnica y abren las puertas a una posible monitorización de la calidad del agua mediante pilas microbianas.

En este trabajo se explora por primera vez tanto la utilización de pilas microbianas para determinar el estado hidrodinámico de un humedal, como la indicación de materia orgánica usando la bio-capacitación en pilas microbianas sin membrana de intercambio. Los resultados obtenidos han demostrado el potencial de las pilas microbianas para ser utilizadas como sensores en procesos ambientales.

Abstract

Microbial fuel cells are devices that generate electric power as a result of organic matter oxidation in the presence of a redox gradient among its electrodes. Over the past years, the use of this technology has exponentially increased, but still limited to the high expense of some of its elements, specially proton exchange membranes. These are necessary to generate the redox gradient of conventional microbial fuel cells.

In this thesis, low cost microbial fuel cells are presented. The microbial fuel cells were built using low-cost materials and were installed in constructed wetlands with a constant organic matter flow and a natural redox gradient. The design was focused on maximising bio indication and parameters such as ease of usage and easy assembly were taken into account. A datalogger was also designed to be used all together, using a free hardware-software. Both elements were used in order to develop two experiments, where two new practical monitoring techniques were proved.

The First experiment consisted on the usage of the microbial fuel cells to analyse the residual water distribution through the wetland. To accomplish that, 27 fuel cells were installed around representative areas of the pilot scale wetland. By means of electric production of the cells, a hydrodynamic model was developed, obtaining very promising results, although it will require further validation through a tracer test.

At the second experiment, the bio indication potential of fuel cells was evaluated using biofilm electric capacitance. The operation of fuel cells by means of an intermittent open-close of the electric circuit technique, allowed the measurement of the cumulative electric charge that remains in the biofilm when the circuit stays open. This cumulative charge was linked to the organic matter concentration in water, obtaining high correlations ($R^2 = 0.90 - 0.99$) that allow us to validate this technique and opens the option to the possibility of monitoring the water quality through microbial fuel cells.

From the authors knowledge, two aspects are explored for first time in this essay: the utilization of fuel cells in order to determine the wetland's hydrodynamic state and the indication of organic matter by the use of microbial fuel cells with no proton exchange membrane by means of biocapacitance. The results obtained prove the potential of fuel cells to be used as environmental processes sensors.

Índice

1.	Introducción	1
2.	Objetivos	2
3.	Estado del Arte	3
3.1	Humedales construidos.....	3
3.2	Pilas microbianas.....	7
3.3	Pilas microbianas en humedales construidos	7
3.4	Bio-indicación con pilas microbianas en humedales construidos.....	8
4.	Materiales y métodos	11
4.1	Planta piloto de humedales construidos.....	11
4.2	Reactores de PVC	12
4.3	Reactor de metacrilato.....	13
4.4	Datalogger Campbell CR1000 + multiplexor.	13
4.5	Diseño y construcción del adquisidor de datos	14
4.6	Optimización del cátodo en pilas microbianas	19
4.7	Pila multi-ánodo.	22
4.8	Pila multi-ánodo para caracterización hidráulica.....	23
4.9	Pilas multi-ánodo para biocapacitación.	23
4.10	Parámetros eléctricos analizados.....	24
4.11	Análisis de la demanda química de oxígeno	26
5.	Metodología	27
5.1	Determinación configuración catódica óptima.....	27
5.2	Determinación configuración anódica óptima.....	29
5.3	Caracterización hidráulica de un humedal mediante pilas microbianas.	30
5.4	Bio-indicación de materia orgánica mediante la capacitación eléctrica de un biofilm. ...	34
6.	Resultados	39
6.1	Configuración catódica óptima.	39
6.2	Configuración anódica óptima.	42

6.3 Caracterización hidráulica de un humedal mediante pilas microbianas.	44
6.4 Bio-indicación de materia orgánica mediante la capacitación eléctrica de un biofilm. ...	50
7. Conclusiones.....	53
8. Referencias.....	55
9. Agradecimientos	57

Índice de figuras

Figura 1.- Humedal construido de flujo superficial. Extraído de Kadlec and Wallace, 2009.	3
Figura 2. Humedal construido de flujo vertical. Extraído de Kadlec and Wallace, 2009	4
Figura 3. Humedal construido de flujo subsuperficial horizontal. Extraído de Kadlec and Wallace, 2009.....	4
Figura 4. Pila microbiana convencional. Extraído de Logan et al. 2006.....	7
Figura 5.- Planta piloto de tratamiento de agua mediante humedales construidos de flujo subsuperficial horizontal.	11
Figura 6.- Disposición de las pilas en los humedales. A-Vista en perfil. B-Vista en planta. C-Vista en Perspectiva.	12
Figura 7.- Reactores de PVC utilizados. A-Diseño generado por ordenador. B-Fotografía.....	13
Figura 8.- Datalogger Campbell CR-1000 y multiplexor	13
Figura 9.- Vistas adquisidor de datos. Resultado final.	17
Figura 10.- Vista en detalle otros elementos del adquisidor de datos. A-Lector tarjeta SD. B-RTC 3231. C-ADS 1115.....	17
Figura 11.- Vista en detalle del adquisidor de datos. A- conexión pilas. B-modos del relé.	18
Figura 12- Ánodo de pila multi-ánodo. A-cartucho de malla plástica. B- Colector de electrones. C-Material granular. D- Separador de fibra de vidrio	22
Figura 13.- Pila multi-ánodo.....	23
Figura 14.- Pila multiánodo usada para bio-indicación.....	24
Figura 15.- Curva típica de capacitación y parámetros necesarios para el cálculo.....	25
Figura 16.- Configuración de las pilas microbianas para la optimización del material anódico. 29	
Figura 17.- Instalación pilas multi-ánodo para la determinación del estado hidrodinámico del humedal	31
Figura 18.- Nomenclatura pilas utilizadas en para la caracterización hidráulica	31
Figura 19.- Conceptualización del modelo de flujo.....	32
Figura 20.- Configuración experimento de bio-indicación. A-Fotografía de los sistemas utilizado. B-Dibujo explicativo de los componentes.....	34
Figura 21.- Detalle conexión adquisidor de datos en el experimento de bio-capacitación.....	36
Figura 22.- Test de carga del biofilm, comparación entre las magnitudes de las descargas en función del tiempo de carga..	37
Figura 23.- Detalle curva de descarga del bio-film. Eje vertical: Voltaje, eje horizontal: Tiempo (hh:mm:ss).	38
Figura 24.- Influencia de la superficie catódica en el rendimiento de la pila microbiana.	39
Figura 25.- Influencia de la superficie específica de colector de electrones en el rendimiento de una pila microbiana.....	40

Figura 26.- Representación zonas eléctricamente muertas en cátodos con alta densidad de malla metálica y materiales no conductores.	40
Figura 27.- Influencia del material catódico sobre el rendimiento eléctrico de una pila microbiana.	41
Figura 28.- Densidades de corriente obtenidas para cada ánodo de la pila multi-ánodo.....	42
Figura 29.- Densidades de corriente obtenidas con la pila multiánodo agrupadas por material y profundidad.....	43
Figura 30.-Modelo teórico degradación M.O. en el humedal.....	44
Figura 31.- Producción eléctrica del humedal por secciones y total durante todo el experimento.	44
Figura 32.- Izquierda: producción eléctrica de los ánodos instalados en la sección 1 del humedal piloto. Derecha: leyenda de forma gráfica.....	45
Figura 33.- Distribución producción eléctrica en la primera sección del humedal.....	45
Figura 34.-Izquierda: producción eléctrica de los ánodos instalados en la sección 2 del humedal piloto. Derecha: leyenda de forma gráfica.....	46
Figura 35.- Distribución producción eléctrica en la segunda sección del humedal	46
Figura 36.- Izquierda: Producción eléctrica de los ánodos instalados en la sección 3 del humedal piloto. Derecha: leyenda de forma gráfica.....	47
Figura 37.- Distribución producción eléctrica en la tercera sección del humedal	47
Figura 38.- Representación del patrón del flujo formado a partir de los resultados del modelo	48
Figura 39.- Curva de respuesta del trazador obtenida de la simulación en el modelo propuesto	49
Figura 40.- Parámetros eléctricos analizados en relación a la concentración de materia orgánica del agua.	50
Figura 41.- Parámetros eléctricos analizados en relación a la concentración de materia orgánica del agua.	51

1. Introducción

El 80% de las aguas residuales resultantes de las actividades humanas se vierten en el medio receptor sin que se eliminen los contaminantes, y debido a esto, 1000 niños mueren cada día a nivel mundial por enfermedades relacionadas con el agua y el saneamiento (ONU, 2015). Aunque la solución a este problema no es única ni sencilla, se debe de poner el foco en esta cuestión para garantizar un desarrollo sostenible del planeta.

La progresiva concentración de la población mundial en grandes urbes, favorece el saneamiento del agua residual ya que los costes unitarios de la depuración de agua disminuyen al aumentar la población equivalente de las depuradoras. Aun así, hoy en día el 45% de la población mundial vive en entornos rurales (BancoMundial, 2017), las soluciones para la depuración de agua en estos entornos son variadas y se deben adecuar a la idiosincrasia de cada zona en particular, pero como característica fundamental, estas deben ser sencillas y baratas.

Entre las tecnologías de depuración de bajo coste se encuentran los humedales construidos, si bien no son aplicables en cualquier clima, son una solución ampliamente aceptada para el saneamiento de las aguas en pequeños núcleos de población ya que no requieren de grandes cantidades de energía ni mantenimiento.

Sin embargo, la presencia de sustancias tóxicas o una mala distribución del agua pueden disminuir la calidad del efluente de forma crítica. Para prevenir el vertido de agua sin depurar al medio receptor, se requieren sistemas de monitorización de estos procesos que se adapten a las características de autonomía y bajo coste de los humedales construidos.

Las pilas microbianas son unos dispositivos que generan corriente eléctrica mediante la oxidación de materia orgánica en presencia de un gradiente redox. Estos dos factores forman parte de la naturaleza de los humedales construidos para depuración de agua y es por ello que en los últimos años se ha investigado la implementación de pilas en estos sistemas con distintos enfoques (generación eléctrica, mejora del tratamiento, monitorización).

En este trabajo se pretenden optimizar las pilas microbianas para crear dos herramientas de monitorización del funcionamiento de humedales construidos. La primera evaluará mediante una técnica novedosa la distribución del agua a través del humedal y la segunda, la calidad del agua en un determinado punto del mismo.

2. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es contribuir a la mejora de la operación y diseño de humedales contruidos de flujo horizontal subsuperficial mediante la utilización de pilas microbianas. Para la consecución del objetivo principal se plantean los siguientes objetivos específicos:

- *Objetivo específico 1:* Determinar la arquitectura y los materiales catódicos/anódicos óptimos y construir las pilas microbianas.
- *Objetivo específico 2:* Diseñar y construir un sistema de adquisición de datos de bajo coste que permita monitorizar las pilas microbianas en un amplio espectro de condiciones experimentales.
- *Objetivo específico 3:* Verificar la aplicabilidad de las pilas microbianas modulares como herramientas de caracterización hidráulica de un humedal construido.
- *Objetivo específico 4:* Determinar si el efecto de biocapacitación en pilas microbianas puede ser utilizado como herramienta de bioindicación de la materia orgánica (DQO) presente en aguas residuales urbanas.

3. Estado del Arte

3.1 Humedales construidos.

Los humedales construidos (CW, constructed wetlands) son sistemas naturales de tratamiento donde el agua residual es tratada mediante procesos físicos, químicos y biológicos que tienen lugar en el lecho granular (García et al. 2010). Están formados por lagunas o canales poco profundos excavados en el terreno, rellenos de un material granular como grava y donde se suelen plantar plantas acuáticas. Los humedales construidos pueden tratar un rango amplio de tipología de agua residual lo que sumado a los bajos costes energéticos, de operación y mantenimiento hacen de estos sistemas una alternativa a los sistemas convencionales de tratamiento, especialmente para pequeñas comunidades (García, 2010; Puigagut et al., 2007a).

Según la circulación de agua residual a través del humedal, se pueden clasificar tres tipos de humedales construidos (Kadlec and Wallace, 2009):

- **Humedales construidos de flujo superficial. (FWS, Free Water Surface)**

En este tipo de humedal, el agua circula libremente en contacto con la atmósfera. Son una modificación de las lagunas para el tratamiento de aguas, pero de menor profundidad y plantas acuáticas.

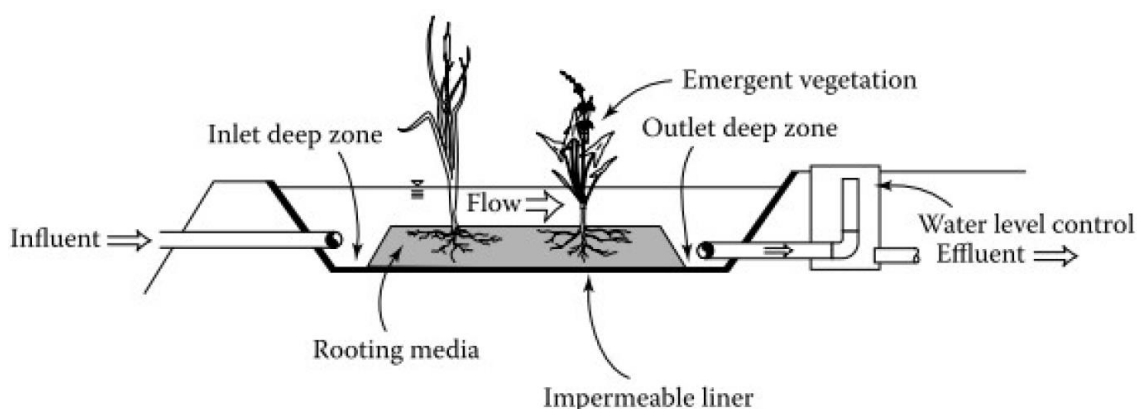


Figura 1.- Humedal construido de flujo superficial. Extraído de Kadlec and Wallace, 2009.

- **Humedales de flujo subsuperficial vertical. (VF, Vertical Subsurface Flow)**

En estos humedales el agua circula de forma vertical desde la zona más superficial, donde se introduce el caudal a pulsos, hasta la zona más profunda donde esta se recoge. Estos sistemas, tienen una mayor capacidad de tratamiento que los humedales de flujo subsuperficial horizontal y se suelen utilizar para generar efluentes nitrificados, pero por el contrario la colmatación medio poroso se produce antes.

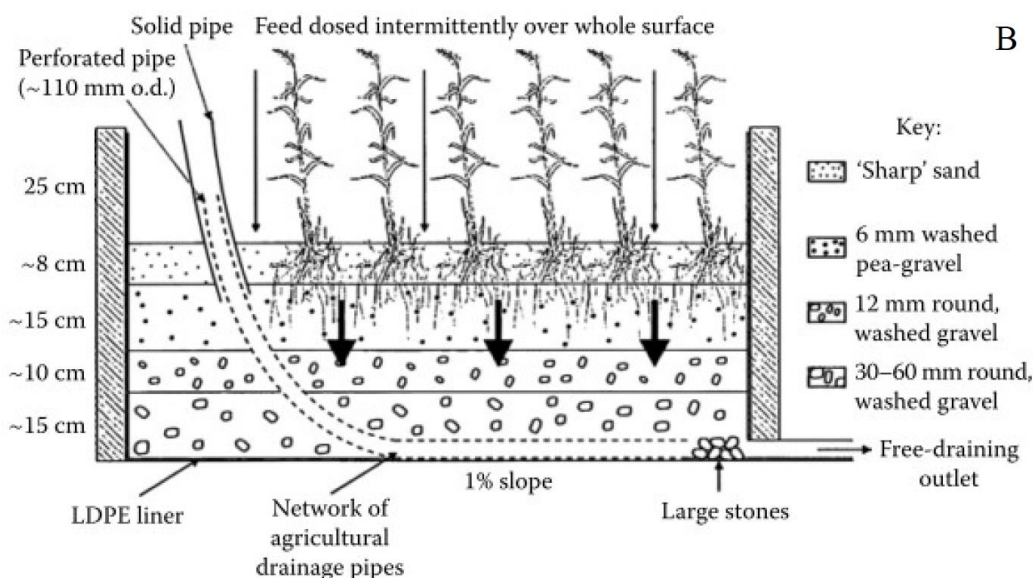


Figura 2. Humedal construido de flujo vertical. Extraído de Kadlec and Wallace, 2009

- **Humedales de flujo subsuperficial horizontal. (HSSF, Horizontal Subsurface Flow)**

En estos sistemas el agua circula horizontalmente a través del medio granular y los rizomas y raíces de las plantas. La profundidad oscila entre 0.3 y 0.9 metros y el agua circula a unos 5-10 cm de la superficie por lo que operan en condiciones de saturación.

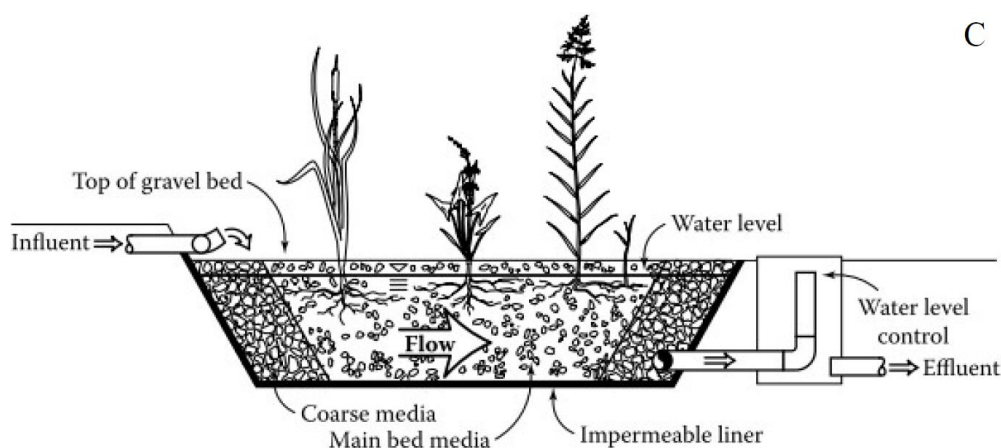


Figura 3. Humedal construido de flujo subsuperficial horizontal. Extraído de Kadlec and Wallace, 2009.

La configuración de humedal más extendida es la de flujo subsuperficial horizontal, debido sobre todo a su sencillez, aunque en ocasiones de suelen combinar un humedal subsuperficial vertical y uno horizontal para incrementar la eliminación de nitrógeno. (Vymazal, 2011).

En este trabajo se van a emplear únicamente humedales de flujo subsuperficial horizontal, por lo que a continuación se describirán los procesos de mayor relevancia y que dan lugar a la eliminación de contaminantes en este tipo de sistema.

3.1.1 Depuración de agua en humedales subsuperficiales de tipo horizontal

La degradación de los contaminantes presentes en el agua residual a través de su paso por un humedal construido, se deben a las múltiples interacciones entre sustrato, microorganismos, medio, plantas etc. Aunque el propósito principal de los humedales de flujo subsuperficial horizontal es la eliminación de materia orgánica, en estos sistemas también se eliminan otras sustancias en menor grado como nitrógeno o fósforo.

La Materia Orgánica (M.O.) está compuesta por la fase particulada y la disuelta. La fase particulada, habitualmente es retenida en el primer tercio del humedal mediante procesos físicos como filtración y sedimentación. La MO disuelta fluye a través del medio granular del humedal y al igual que la particulada que es retenida, se va fragmentando, hidrolizando y asimilando por multitud de procesos. En estos sistemas los rendimientos de eliminación de – M.O. rondan el 75-95%.

El nitrógeno en el agua residual urbana se encuentra fundamentalmente en forma de amonio y se elimina mediante la nitrificación-desnitrificación cuando se combinan humedales verticales y horizontales. En humedales subsuperficiales de flujo horizontal predominan las condiciones anaerobias por lo que la vía de eliminación de nitrógeno (10-20%) es la asimilación por las plantas del amonio o nitrato. Los procesos de eliminación de fósforo (10-20%), utilizan mecanismos bióticos (asimilación por plantas y microorganismos) y abióticos (absorción en el medio granular).

3.1.2 Hidrodinámica en humedales subsuperficiales de tipo horizontal.

Los humedales, por tanto, como sistema de tratamiento de aguas, deben su eficiencia a un adecuado tiempo de contacto del agua con el material granular del que se compone y la biomasa adherida a este. Un tiempo de contacto inferior al de diseño, producirá una eliminación de contaminantes inferior a la deseada.

Es por esto que es indispensable un buen reparto del caudal (Q) de agua residual a través de todo el volumen del humedal, lo que se idealizaría mediante un flujo pistón que atravesase el área transversal (Ω) a una velocidad igual a Q/Ω . Los tres tipos de ineficiencias hidráulicas que en mayor o menor medida se encuentran presentes en todos los humedales de tratamiento de aguas son las siguientes (Kadlec and Wallace, 2009).

- Accidentes topográficos internos.
- Vías de flujo preferencial.
- Fenómenos de mezcla interna.

Las etapas de diseño y construcción del humedal tienen una gran importancia en la reducción de estos problemas, escogiendo una profundidad no muy elevada y un material granular y vegetación con tamaño y características correctas, aunque en la realidad no es posible evitar irregularidades del flujo ni aun tomando cuidados extremos (Kadlec and Wallace, 2009).

Una de las causas más importantes de la aparición de ineficiencias hidráulicas durante la operación de un humedal es la colmatación de medio poroso, que progresivamente va disminuyendo su eficiencia como sistema de tratamiento de agua. Este fenómeno se produce debido a la acumulación progresiva de materia orgánica particulada en zonas concretas del humedal, reduciendo su permeabilidad, e implica que el flujo de agua residual tome caminos preferenciales, reduciéndose el volumen útil y por tanto el tiempo de retención hidráulico de diseño. La aparición de estos fenómenos se puede retrasar aplicando buenos criterios de diseño y operación, pero en la práctica se hacen necesarias herramientas para el control a tiempo real de estos procesos.

La forma más extendida de conocer el comportamiento hidráulico de un humedal durante su operación es llevar a cabo un estudio de trazadores (G.D. Gikas et al., 2017). Estos ensayos se basan en la inyección de una sustancia llamada trazador en el afluente y la medición de esta en la salida del sistema. La representación gráfica de concentración del trazador en la salida respecto al tiempo, permite obtener parámetros como el tiempo de retención medio, eficiencia hidráulica, porcentaje de zonas muertas, que determinarán el estado hidrodinámico del humedal.

Los estudios de trazadores están ampliamente extendidos, ya que son la forma más sencilla y fiable de evaluar el comportamiento hidrodinámico de un humedal en operación. Sin embargo, su aplicación a humedales de escala real tiene varios inconvenientes entre los que destaca, las grandes cantidades de trazador a utilizar, la necesidad de modificación de operación de la planta y la aparición de fenómenos de mezcla interna y flujo transversal más acusados que en escala piloto, que alargan la duración de estos ensayos si se quiere asegurar un correcto porcentaje de recuperación de trazador. Además, aunque es una herramienta ampliamente utilizada, el estudio de trazadores no permite determinar dónde se encuentran las deficiencias hidráulicas, sólo si las hay y en qué magnitud.

3.2 Pilas microbianas.

Las pilas microbianas son dispositivos bio-electro-químicos que generan un flujo de electrones gracias a la oxidación de materia orgánica, utilizando bacterias exoelectrogénicas como catalizadores (Logan et al. 2006). Los electrones generados por las bacterias en el ánodo se transfieren al colector de electrones y fluyen a través del conductor hacia el cátodo.

Una pila microbiana convencional está formada por una cámara anódica, biótica y una catódica, abiótica, separadas por una membrana de intercambio de protones. La materia orgánica que se encuentra en la cámara anódica, es oxidada anaerobiamente produciendo protones y electrones. Los microorganismos adjuntos al material anódico actúan como un aceptor artificial de estos últimos (Chae, et al., 2009) (Guerrini, et al., 2013). Los electrones se transfieren al compartimento del cátodo por un circuito externo, mientras que los protones se transfieren al compartimento catódico a través de la membrana. En el cátodo, los electrones se combinan con los protones y con un aceptor de electrones, tal como el oxígeno, produciendo agua (Rabey, et al., 2007).

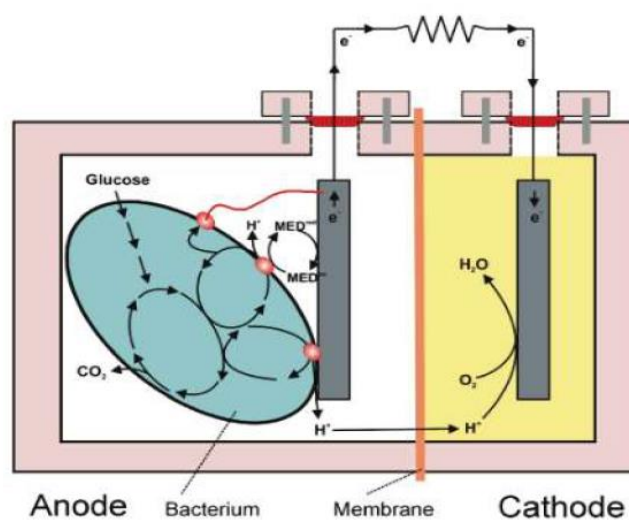


Figura 4. Pila microbiana convencional. Extraído de Logan et al. 2006

3.3 Pilas microbianas en humedales construidos

En los últimos años, se han desarrollado alternativas a la configuración convencional de pila microbiana, consiguiendo instalarse pilas sin membrana de intercambio en ambientes donde la presencia de MO y el gradiente redox se producen de forma natural como arrozales sedimentos marinos y humedales construidos (Kaku et al., 2008; Yadav et al., 2012).

Los humedales contruidos de flujo subsuperficial horizontal, son sistemas fundamentalmente anaeróbicos, aun así, la parte más superficial del humedal permanece bajo condiciones aeróbicas debido a que está en contacto con la atmósfera, dando lugar a gradientes redox de alrededor 0.5V (García et al. 2003). Lo que sumado a la presencia de M.O genera un marco muy favorable para explotar la sinergia pila microbiana-humedal construido.

El conocimiento sobre pilas microbianas en humedales contruidos (MFC-CW) se ha enfocado hacia diversas aplicaciones. Aunque MFC convencionales operadas con agua residual han sido capaces de generar electricidad por encima de 12W/m³ (logan and Rabaey, 2012), las enormes resistencias internas que se producen en las MFC-CW han hecho que hoy en día se estén explorando otras áreas de estudio como son la mejora de la eficiencia de tratamiento y la bio-indicación.

3.4 Bio-indicación con pilas microbianas en humedales contruidos

La existencia de un sistema de tratamiento no garantiza por si solo la protección del medio receptor, además se ha de garantizar que el efluente de estos sistemas cumpla unos requisitos de calidad, expresados normalmente en términos de Demanda Química de Oxígeno (DQO) y Sólidos en Suspensión (SS), obtenidos mediante un muestreo y una frecuencia adecuadas que en el caso del estado español vienen determinados por el RD 509/1996, de 15 de marzo. Este RD impone una calidad mínima de vertido de 125 mg O₂/l para la DQO y 35-60 mg/l para los SS, valores obtenidos de un muestro a realizar con una frecuencia mínima que varía entre 4 y 24 veces al año dependiendo del tamaño y la antigüedad de la instalación.

La DQO es un parámetro ampliamente usado para la determinación de la calidad del efluente de una depuradora de aguas residuales urbanas, y representa la cantidad de materia orgánica presente en el agua residual que es capaz de oxidarse. La determinación de este parámetro en laboratorio no es inmediata, utiliza una gran cantidad de energía eléctrica y sustancias químicas como el dicromato potásico y el ácido sulfúrico, que son especialmente dañinas para el medio ambiente y la salud de las personas. Por otra parte, la frecuencia mínima de muestreo requerida por la legislación (bi-semanal en el mejor de los casos), no es capaz de arrojar datos representativos de la calidad del efluente de una planta depuradora debido a su alta variabilidad (Jouanneau et al. 2014), lo que puede tener efectos muy negativos sobre el medio receptor. De cara a monitorizar a tiempo real la calidad del efluente para asegurar una correcta depuración, se precisa un sistema novedoso que evite los inconvenientes que derivan del uso de la técnica de determinación DQO en uso en la actualidad.

Las pilas microbianas representan una herramienta con gran potencial para la indicación de Materia Orgánica (M.O.) mediante el análisis de la corriente eléctrica generada, fácilmente medible y sin necesidad de conversores de señal.

Estudios previos han mostrado la viabilidad de la monitorización de la materia orgánica presente en el agua residual utilizando pilas microbianas convencionales (con membranas de intercambio) mediante el análisis de la producción de corriente eléctrica (Chang et al. 2004; Kim et al. 2003; Peixoto et al. 2011). Sin embargo, los sistemas utilizados en estos estudios, tienen varios inconvenientes que dificultan su aplicabilidad real, como es el uso de materiales anódicos y membranas muy costosas (Logan, 2008) y sistemas de medición complejos y de carácter experimental.

Las pilas microbianas sin membrana de intercambio de protones, en las cuales se utiliza grava y grafito como material para el crecimiento del biofilm y malla metálica como colector de electrones, han demostrado ya su aplicabilidad para la indicación de materia orgánica (Corbella et al. 2019), solventando de esta forma la limitación económica principal derivada del uso de pilas microbianas para bio-indicación. Una de las principales limitaciones de los estudios de Corbella y colaboradores es la corta vida útil de la herramienta de bioindicación (pocas semanas).

Otros autores han explorado la capacidad de capacitación de un biofilm para aplicaciones de indicación de M.O. La bio-capacitación se basa en que las bacterias exoelectrogénicas pueden seguir oxidando materia orgánica, aunque el circuito eléctrico que completa la reacción bio-electro-química permanezca abierto (ausencia física del aceptor de electrones), transfiriendo los electrones a proteínas con capacidad de oxidación-reducción que se encuentran embebidas en el propio biofilm (proceso de carga). Este biofilm actuará como acumulador, hasta que el circuito se cierre, momento en el que empezará la descarga de los electrones acumulados durante el periodo anterior (J. Sim et al. 2018).

Dado que la acumulación de electrones es debida, entre otros factores, a la cantidad de materia orgánica disponible por parte de las bacterias durante el periodo de carga, los parámetros eléctricos registrados en la descarga del biofilm serán indicadores de la materia orgánica acumulada en el periodo de carga. La viabilidad de esta técnica se ha demostrado previamente encontrándose grandes correlaciones entre la descarga de los culombios acumulados en el biofilm y la cantidad de materia orgánica presente en el agua (J. Sim et al. 2018).

Sin embargo, una de las limitaciones más importantes actuales entre la relación de la producción eléctrica de una pila microbiana con la materia orgánica presente en el agua reside en el tiempo requerido para la bioindicación (varias horas/días). Estos elevados tiempos son un problema para la necesidad de monitorización a tiempo real de la materia orgánica presente en un

determinado punto de una planta de tratamiento, colector, etc. Por otra parte, el empleo de adquisidores de datos o potenciómetros con costes muy elevados sigue ralentizando la aplicación real. Si bien existen modelos portátiles que se pueden alimentar con placas solares (aumentando la viabilidad de su uso en campo), representan un coste importante que limitaría la posible aplicación real de una herramienta basada en el uso de MFC en sistemas de tratamiento de bajo coste como son los humedales construidos.

4. Materiales y métodos

Para llevar a cabo los experimentos de este trabajo, se han utilizado distintas herramientas y técnicas según el objetivo a cumplir en cada caso, las cuales se describen a continuación.

4.1 Planta piloto de humedales construidos

Los humedales mostrados en la Figura 5.- Planta piloto de tratamiento de agua mediante humedales construidos de flujo subsuperficial horizontal., forman una planta piloto de tratamiento de agua residual situada en los laboratorios del GEMMA. En este trabajo se han utilizado dos de ellos para la optimización de la configuración catódica ([objetivo específico 1](#)) y posteriormente otro para la verificar la herramienta de monitorización del estado hidrodinámico de un humedal ([objetivo específico 3](#)).



Figura 5.- Planta piloto de tratamiento de agua mediante humedales construidos de flujo subsuperficial horizontal.

Cada humedal consiste en un contenedor de PVC ($L=55\text{cm}$, $W = 35\text{cm}$), donde la columna de agua se sitúa a 28cm de altura y relleno de grava de río con un diámetro que va de 4 a 8 mm y una porosidad efectiva de 0.4 . Todo ello resulta un Volumen efectivo (V_{eff}) de 21.56 litros.

La alimentación, se realiza con agua residual urbana captada del colector municipal tras un proceso previo de decantación de 2 horas. Esta alimentación es continua con un caudal de 5 litros/día, lo que determina un Tiempo de Retención Hidráulico nominal (TRH) de 3.9 días.

Cada humedal, dispone de tres pilas microbianas dispuestas según el sentido del flujo de agua residual. (Figura 6). Cada pila está constituida por un ánodo consistente en 4 mallas metálicas de acero inoxidable (marine grade A316L) separadas 4 cm entre ellas, y un cátodo de fieltro de grafito (Alfa Aesar 99% pureza).

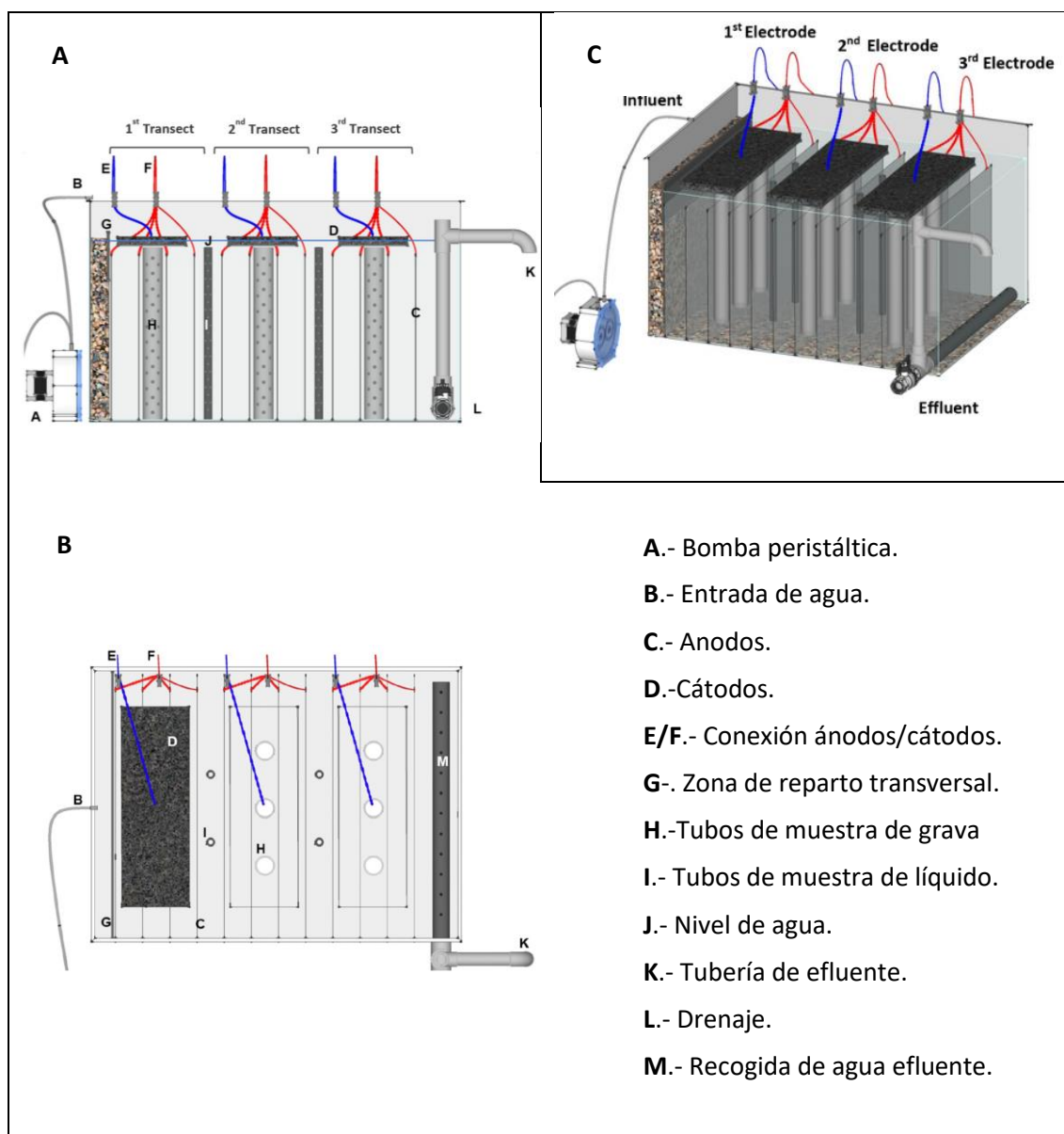


Figura 6.- Disposición de las pilas en los humedales. A-Vista en perfil. B-Vista en planta. C-Vista en Perspectiva.

4.2 Reactores de PVC

Para llevar a cabo los experimentos destinados a verificar la biocapacitación de pilas microbianas como herramienta de bioindicación ([objetivo específico 4](#)), se diseñó un reactor cilíndrico de PVC del que se construyeron 4 réplicas ($\varnothing = 15$ cm, Altura 30cm) con recirculación, una tubería para el control de nivel y una válvula de vaciado del sistema (Figura 7.- Reactores de PVC utilizados. A-Diseño generado por ordenador. B-Fotografía

). Para la recirculación se empleó una bomba peristáltica de 3.2 litros/hora de cara a asegurar la homogenización de la materia orgánica, y el nivel de agua dentro del reactor se fijó en 25 cm mediante la tubería de control del nivel. El volumen útil de cada sistema fue de 4.41 litros.

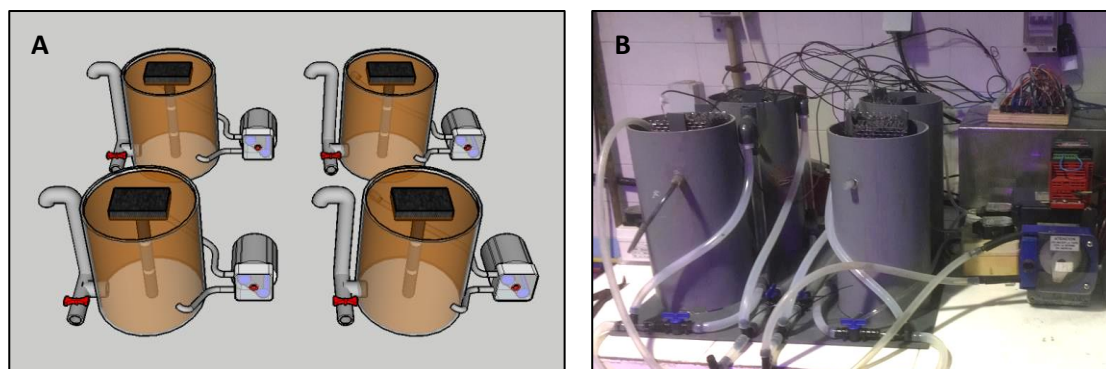


Figura 7.- Reactores de PVC utilizados. A-Diseño generado por ordenador. B-Fotografía

4.3 Reactor de metacrilato.

Los experimentos orientados a determinar el material y configuración anódica ([objetivo específico 1](#)), se realizaron en un reactor de metacrilato (L=35cm, W= 10) construido a tal efecto. El nivel de agua se fijó a 28 cm de la base ($V_{eff} = 9.8$ litros), para simular el nivel de agua en el humedal piloto. La alimentación del reactor se llevó a cabo con agua residual urbana decantada 2 horas y un caudal de 2.5 litros/día con el fin de asegurar el mismo TRH que el humedal piloto (3.9 días).

4.4 Datalogger Campbell CR1000 + multiplexor.

Un datalogger es un dispositivo electrónico que utiliza transductores analógico-digitales para tomar datos provenientes de un sensor y almacenarlos o transmitirlos a un dispositivo de almacenamiento externo. Su uso en el mundo científico está ampliamente extendido, ya que generalmente se requieren mediciones de sensores para los experimentos. Aunque posteriormente en este trabajo, se construye un datalogger utilizando herramientas libres, se llegó a utilizar un modelo comercial para llevar a cabo los [objetivos específicos 1 y 3](#). Para el caso del [objetivo específico 3](#), a este datalogger se le añade un multiplexor debido a la cantidad de datos a recoger (Figura 8).



Figura 8.- Datalogger Campbell CR-1000 y multiplexor

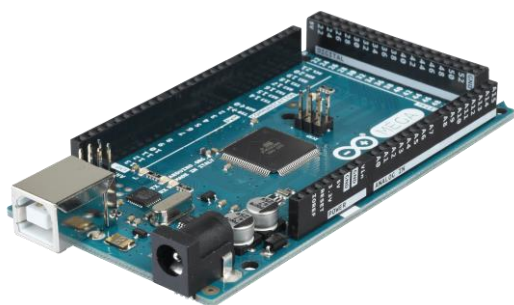
4.5 Diseño y construcción del adquisidor de datos

La consecución del [objetivo específico 2](#) de este trabajo se relata en este apartado, en el cual se diseñó y programó en lenguaje C++, un adquisidor de datos basado en un microcontrolador Atmega 2560, el cual una vez finalizado se utilizó para satisfacer el [objetivo específico 4](#). Este dispositivo construido con herramientas libres y de muy bajo coste, debería cumplir con los siguientes requerimientos de funcionalidad:

- Registro de 8 voltajes diferenciales de forma continua y precisa.
- Funcionamiento estable en el tiempo.
- Almacenamiento y extracción de datos sencilla y fácilmente interpretable.
- Control mediante el mismo adquisidor de datos de la apertura/cierre del circuito eléctrico de las pilas microbianas ([objetivo específico 4](#)).

4.5.1 Componentes utilizados.

Arduino Mega 2560 Rev3:



Esta placa está basada en el microcontrolador Atmega 2560. Dispone de 54 entradas/salidas digitales y 16 entradas analógicas. Dispone de memoria flash de 256 KB, SRAM de 8 KB y EEPROM de 4 KB. El voltaje de funcionamiento es de 5V y su uso es generalizado en el campo de la domótica y automatización de sistemas.

En el adquisidor de datos construido, se utilizó para el control de todos los demás componentes. El precio de esta placa microcontroladora ronda los 30 €, aunque existen copias de otros fabricantes por 10€.

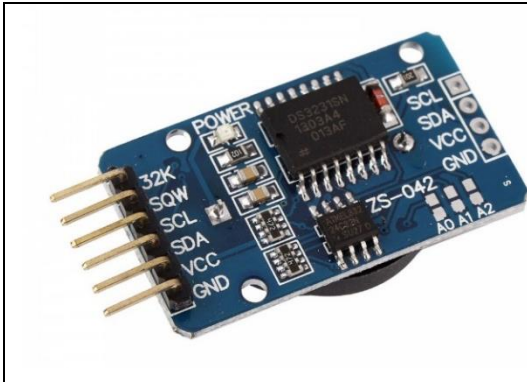
Transductor analógico/digital ADS1115:



El ADS1115, es transductor analógico/digital (ADC), permite precisiones de 16 bits (± 0.2 mV) a 860 muestras por segundo.

Se escogió ya que además de su alta resolución, es capaz de llevar a cabo lecturas diferenciales de voltaje entre dos electrodos de pila microbiana y aislarlas del negativo del sensor (GND). Permite conectar 4 dispositivos al mismo controlador con tan solo cambiar la dirección I2C de cada uno de ellos. El coste oscila los 0.70€.

Reloj RTC DS3231



El reloj a tiempo real DS3231, supone una mejora respecto a los relojes usualmente usados en proyectos con Arduino, ya que incorpora un compensador de temperatura en el cristal de cuarzo, lo que resulta en una gran precisión en la fecha/hora. El protocolo de comunicación que utiliza es el I2C y la batería que lleva instalada se recarga durante el uso.

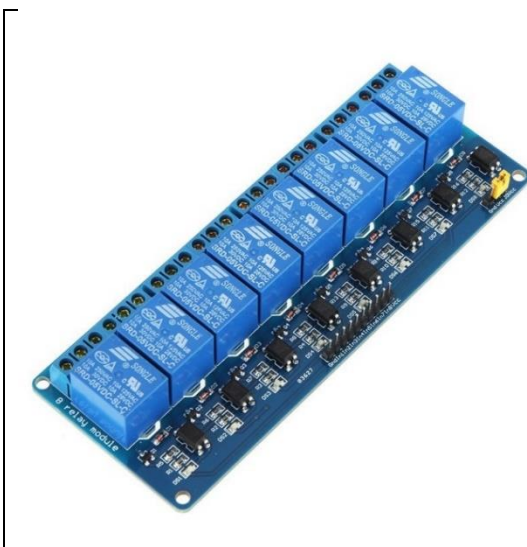
El precio ronda los 2-3€.

Lector de tarjetas SD



El lector de tarjetas SD, es un dispositivo que permite guardar los datos obtenidos de los sensores en un dispositivo ampliamente utilizado y bajo coste. La lectura/escritura se realiza por medio del bus SPI. El precio de este dispositivo es muy reducido pudiendo encontrarse por 0.65€.

Módulo 8 Relés



Un relé es un dispositivo electromecánico que sirve para abrir o cerrar un circuito eléctrico (primario) mediante un electroimán alimentado por otro circuito (secundario) permaneciendo ambos aislados eléctricamente. En este caso se utilizará una placa de 8 relés como interruptor de apertura/cierre del circuito de las pilas microbianas. Mediante el envío de una señal digital desde el controlador, se pueden controlar los 8 relés de forma independiente lo que simplifica enormemente el estudio del fenómeno de bio-capacitación. El coste de esta placa ronda los 8€.

Indicadores Led

	<p>Los diodos led son unos dispositivos electrónicos que cuando esta polarizado directamente (permiten el paso de la corriente en un solo sentido), emite luz. El consumo eléctrico de estos componentes es muy reducido (10-100 mW) por lo que su uso está extendido.</p> <p>En esta aplicación se usaron para indicar el funcionamiento del adquisidor de datos cuando este funciona de forma autónoma (sin ordenador conectado). El coste de los tres indicadores oscila en torno a 1€.</p>
---	--

4.5.2 Esquema conceptual

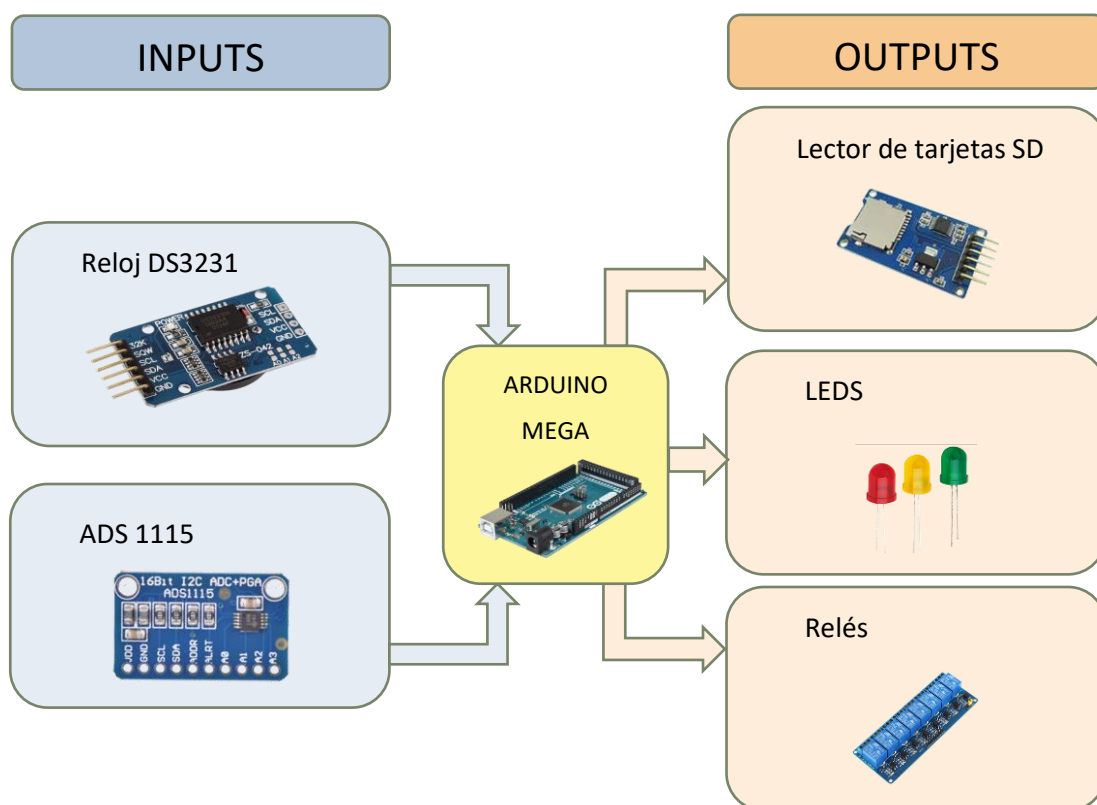


Figura 1.- Esquema conceptual construcción adquisidor de datos

4.5.3 Resultado final.

El coste total del adquisidor de datos en total fue de unos 40€, se utilizó una tabla de madera para ensamblar los componentes entre sí y el resultado final se puede observar en las siguientes figuras.

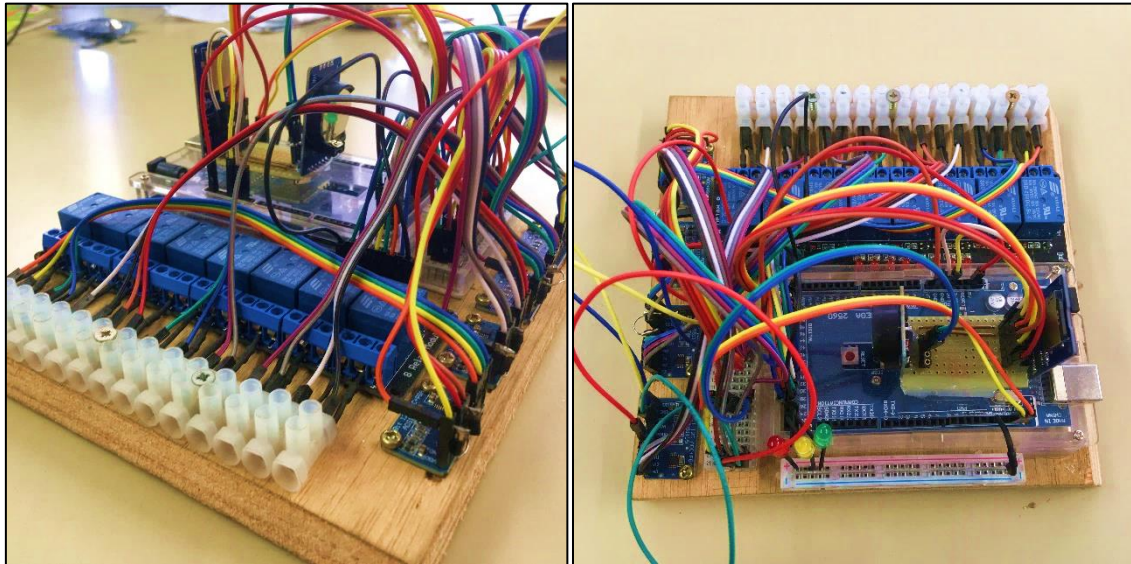


Figura 9.- Vistas adquisidor de datos. Resultado final.

La Figura 9, muestra distintas vistas generales del adquisidor datos. En la Figura 10, se muestran de forma más detallada el lector de tarjetas SD, el reloj y el ADC utilizados.

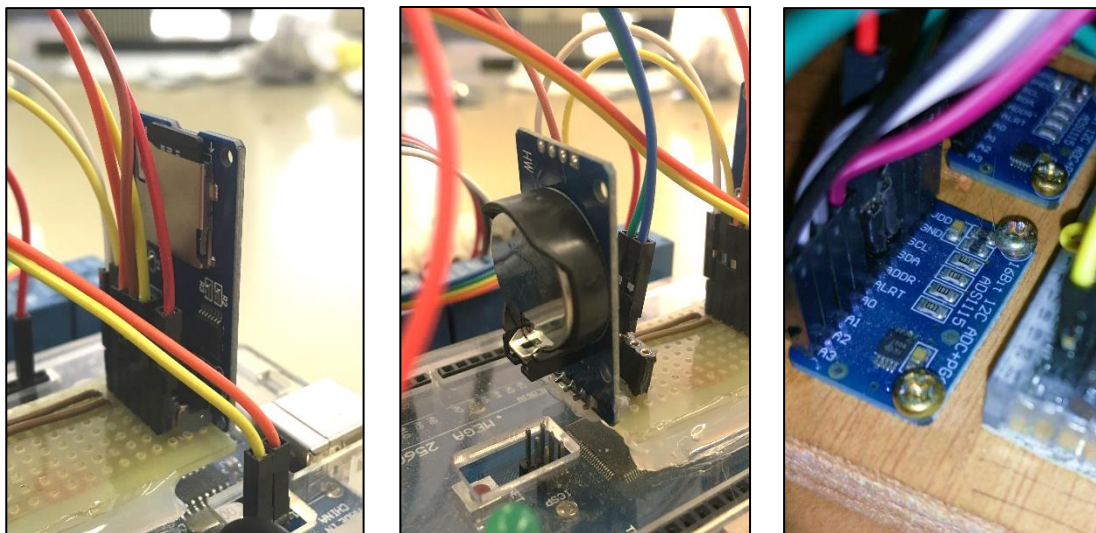


Figura 10.- Vista en detalle otros elementos del adquisidor de datos. A-Lector tarjeta SD. B-RTC 3231. C-ADS 1115

En la Figura 11-A se aprecia la regleta blanca de conexión de los electrodos (ánodo/cátodo), a esta regleta se conectan también los cables que van al ADS1115 que hace las funciones de voltímetro. El relé utilizado consta de 3 polos y mediante Arduino se puede controlar la conexión del polo central con los laterales. Tal y como se ve en la Figura 11-B, si el polo central se conecta

con el situado a su derecha, el circuito eléctrico se cerrará a través de la resistencia. Sin embargo, si se conecta con el situado a su izquierda, el circuito permanecerá abierto.

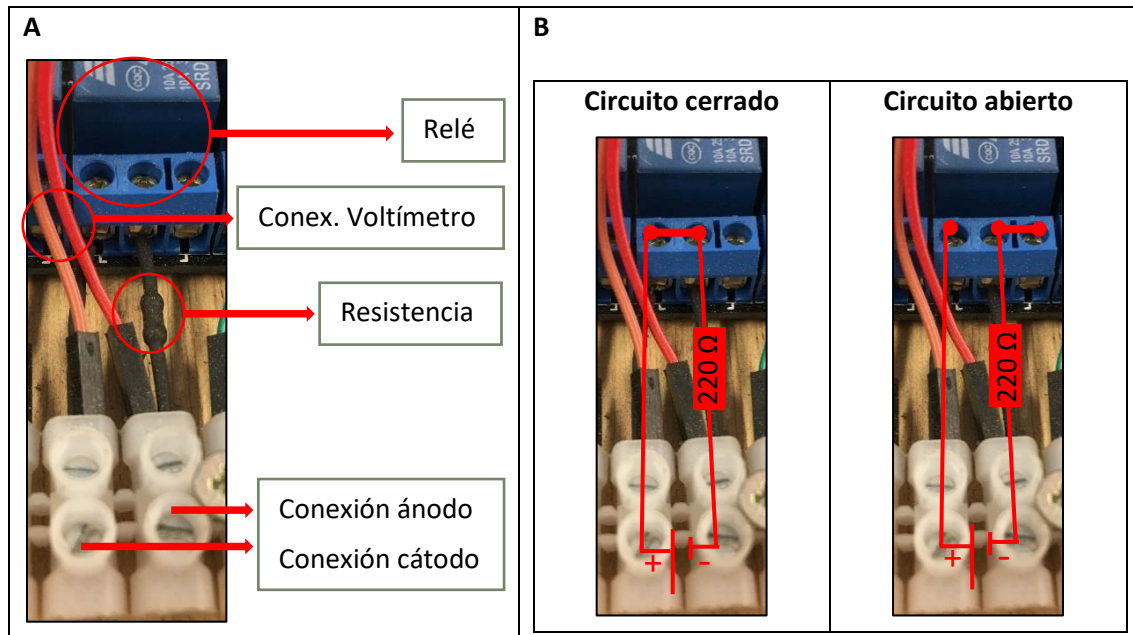


Figura 11.- Vista en detalle del adquisidor de datos. A- conexión pilas. B- modos del relé.

4.6 Optimización del cátodo en pilas microbianas

Para satisfacer el [objetivo específico 1](#) de este trabajo, se utilizó una pila microbiana formada por los ánodos instalados en la [planta piloto](#) descrita anteriormente, a la que se fueron imponiendo distintas configuraciones catódicas.

La cantidad de malla metálica empleada está expresada en unidades de superficie de malla metálica entre volumen total de cátodo ($\text{m}^2_{\text{malla metálica}} / \text{m}^3_{\text{cátodo}}$).

Los materiales granulares que se utilizaron fueron:

- **Grava de río.**
- **Escoria metálica** proveniente de residuo del proceso de fabricación del acero.
- **Antracita granular.**
- **Grafito granular** proveniente de residuo de electrodo de fundición de metal.


<i>Antracita</i>		<i>Grafito</i>	
Carbono	>90%	Carbono	>98%
Cenizas	<8%	Azufre	<0,05%
Volátiles	<3,5%	Nitrógeno	<0,05%
Azufre	<1%	Humedad	<0,5%
Humedad	<2%	Cenizas	<1%
		Volátiles	<0,5%


Tabla 1.- Caracterización química de la antracita y el grafito aportada por el proveedor.

El proveedor de la escoria metálica fue el departamento de materiales de la UPC, mientras que el grafito y la antracita granular fueron suministrados por POLGRAF S.A.


Las distintas configuraciones catódicas empleadas, se describen a continuación agrupadas por experimento.


4.6.1 Experimento 1.

Configuración 1.0		
Dimensiones	300 x 100 x 20	
Material catódico	Grava	
Cantidad de malla metálica	38.33 m ² /m ³	


Configuración 1.1		
Dimensiones	300 x 100 x 20	
Material catódico	Grava	
Cantidad de malla metálica	64.13 m ² /m ³	


4.6.2 Experimento 2.

Configuración 2.0		
Dimensiones	300 x 100 x 20	
Material catódico	Escoria metálica	
Cantidad de malla metálica	38.33 m ² /m ³	


Configuración 2.1		
Dimensiones	300 x 100 x 20	
Material catódico	Escoria metálica	
Cantidad de malla metálica	64.13 m ² /m ³	


4.6.3 Experimento 3.

Configuración 3.0		
Dimensiones	300 x 60 x 20	
Material catódico	Grava	
Cantidad de malla metálica	38.33 m ² /m ³	


Configuración 3.1		
Dimensiones	300 x 60 x 20	
Material catódico	Grava	
Cantidad de malla metálica	64.13 m ² /m ³	


4.6.4 Experimento 4.

Configuración 4.0		
Dimensiones	300 x 100 x 20	
Material catódico	Escoria metálica	
Cantidad de malla metálica	64.13 m ² /m ³	

Configuración 4.1		
Dimensiones	300 x 60 x 20	
Material catódico	Escoria metálica	
Cantidad de malla metálica	64.13 m ² /m ³	

4.6.5 Experimento 5.

Configuración 5.0		
Dimensiones	300 x 100 x 20	
Material catódico	Grafito	
Cantidad de malla metálica	38.33 m ² /m ³	

Configuración 5.1		
Dimensiones	300 x 100 x 20	
Material catódico	Antracita	
Cantidad de malla metálica	38.33 m ² /m ³	

De lo observado en el apartado de [Resultados](#), se concluyó que la mejor configuración catódica era la configuración 5.0, constituida por un soporte de malla metálica con relleno de grafito granular. Este cátodo fue el empleado para satisfacer los [objetivos específicos 2 y 3](#) de este trabajo, y uno de menores dimensiones para el [objetivo 4](#).

4.7 Pila multi-ánodo.

De cara a satisfacer parte del [objetivo específico 1](#) de este trabajo se planteó un diseño de ánodo cilíndrico constituido por distintos materiales que pudiera ser fácilmente instalado en un humedal en operación. A tal fin, se construyeron nueve ánodos cilíndricos (Figura 12) con unas dimensiones de 7.5 cm de alto y 2,5 cm de diámetro (Área superficial = 4.9 cm²).

El material granular utilizado en tres de los ánodos fue grava, en otros tres, grafito, y los tres restantes una mezcla al 50% en volumen de grava y grafito. El colector de electrones estuvo constituido por una malla metálica (Marine Grade 316L) de 6 cm de largo y 2cm de ancho. Como conductor, se utilizó un hilo de esta misma malla unido al colector y recubierto con funda termo-retráctil para aislarlo y reducir los cortocircuitos en el interior del humedal. Para garantizar la integridad del ánodo, el material granular junto con el colector de electrones se dispuso en unos cartuchos de malla plástica contruidos a tal efecto.

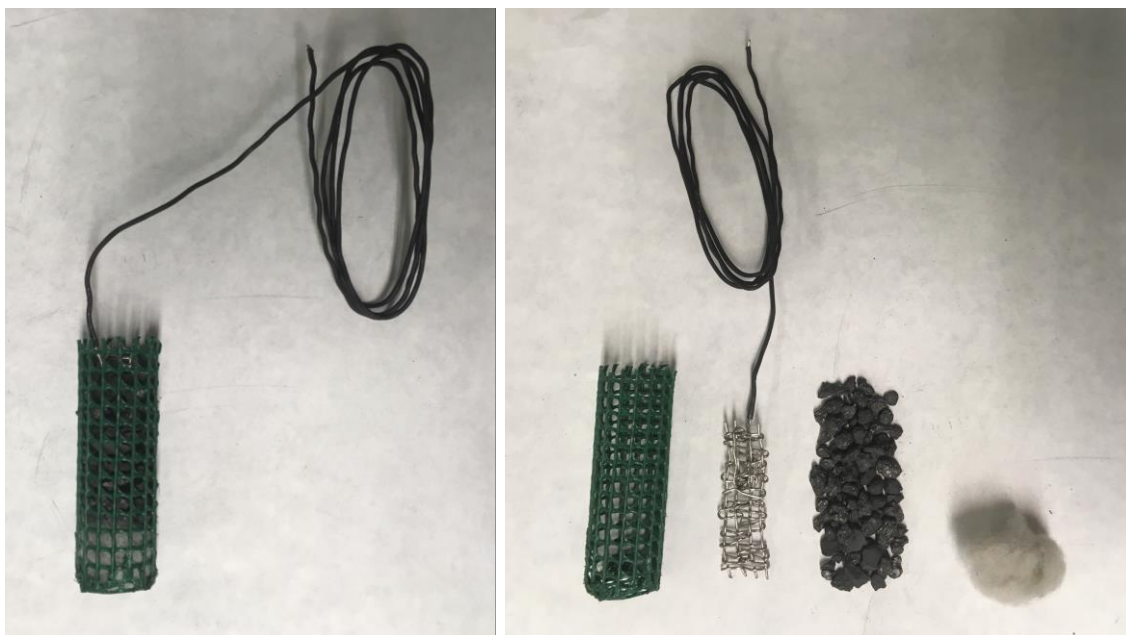


Figura 12- Ánodo de pila multi-ánodo. A-cartucho de malla plástica. B- Colector de electrones. C-Material granular. D- Separador de fibra de vidrio

El tipo de pila microbiana que se implementó para este experimento se le llamó multi-ánodo. Una pila multi-ánodo estará constituida por un cátodo conectado eléctricamente a través de “n” resistencias a “n” ánodos. En este caso, debido a los buenos [resultados obtenidos](#), el cátodo es el [5.0](#) descrito anteriormente (Area superficial = 300 cm²) formado por malla metálica y grafito granular, y los ánodos son los nueve mencionados previamente, apilados en tres columnas según el material y separados entre ellos por 2cm de fibra de vidrio como se puede ver en la Figura 13.

De esta forma se pretendió llevar a cabo la comparación entre materiales anódicos y paralelamente hacer la prueba de concepto de la tipología de pila multi-ánodo.

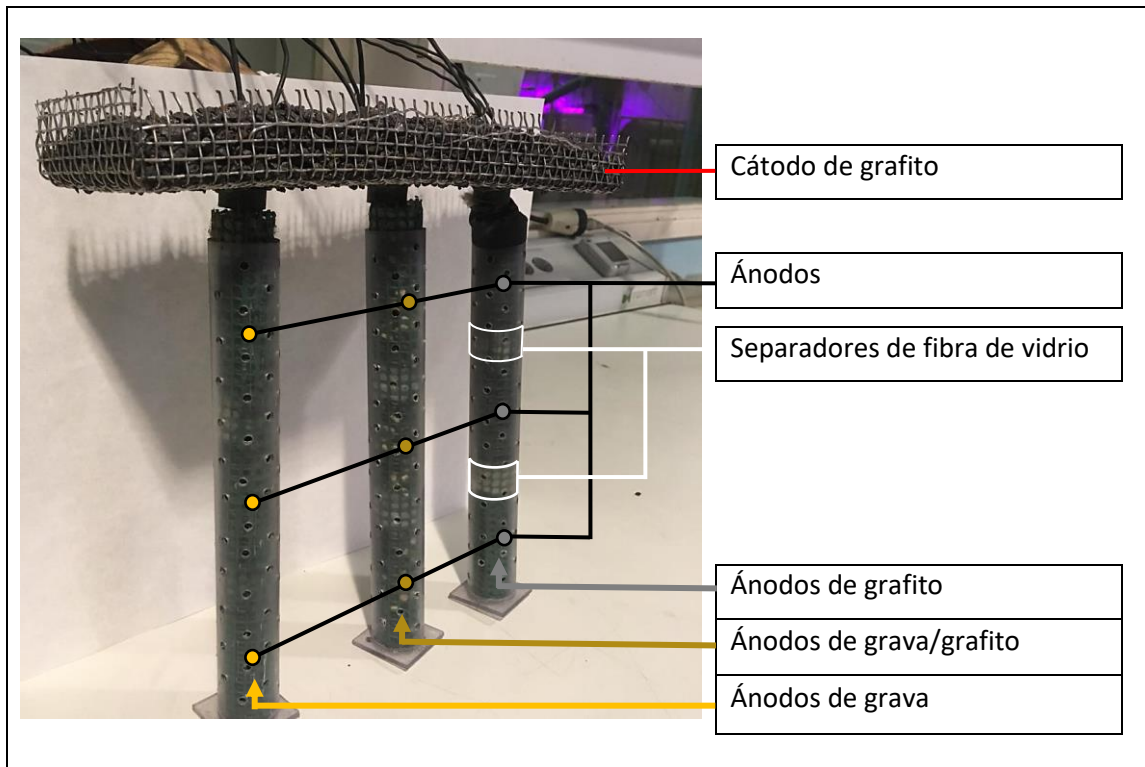


Figura 13.- Pila multi-ánodo.

Como se observó después en los [Resultados](#), el material anódico con mejores resultados fue el grafito granular, y es con el que se construirán los ánodos de las pilas destinadas a satisfacer los [objetivos específicos 3 y 4](#) de este trabajo.

4.8 Pila multi-ánodo para caracterización hidráulica.

En los experimentos destinados a responder al [objetivo específico 3](#), se utilizaron tres pilas de tipo multi-ánodo semejantes a la mostrada anteriormente. La diferencia respecto a la descrita en el punto anterior, fue que en este caso el material granular empleado en todos los ánodos fue grafito.

4.9 Pilas multi-ánodo para biocapacitación.

Para evaluar el [objetivo específico 4](#), se llevaron a cabo varios experimentos en los que se utilizaron cuatro pilas compuestas cada una de ellas por un cátodo de planta cuadrada (36 cm²) conectado a 3 de los ánodos apilados en altura utilizados en las pilas multi-ánodo. El material granular utilizado en ambos electrodos fue grafito granular. La reducción del tamaño del cátodo en este caso se ve motivada por el tamaño de los reactores utilizados en este experimento y para los cuales estas pilas están diseñadas.

A continuación, se muestra una imagen de la pila microbiana descrita en el anterior párrafo y sus componentes.

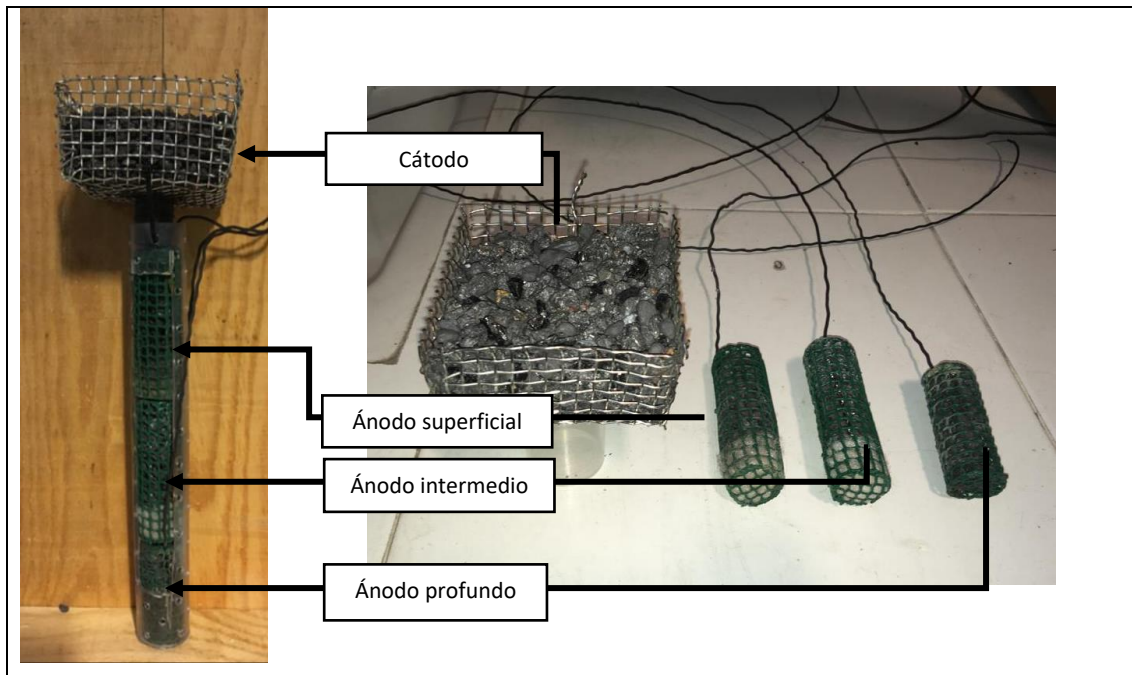


Figura 14.- Pila multiánodo usada para bio-indicación

4.10 Parámetros eléctricos analizados.

La diferencia de potencial medida entre el ánodo y el cátodo de una pila microbiana, es conocida como E_{cell} (V), y representa la diferencia entre el potencial máximo que puede producirse en un momento dado menos las pérdidas debidas a sobre potenciales y pérdidas óhmicas.

La potencia (P) generada por la pila está determinada según la ley de Ohm, se obtiene de multiplicar la diferencia de potencial por la intensidad (I) según la ecuación 1:

$$P (W) = E_{cell} \cdot I \quad Ec. 1$$

De forma general el voltaje se mide en paralelo a la resistencia externa (R_{ext}) impuesta al circuito, por lo que teniendo en cuenta la ley de Ohm, el cálculo de la potencia pasa a ser:

$$P(W) = E_{cell}^2 / R_{ext} \quad Ec. 2$$

La producción eléctrica es la integral de la potencia respecto al tiempo, se suele representar en unidades de Watios · día y se calcula mediante la siguiente ecuación.

$$Prod. E. (W \cdot día) = \int P(t) \cdot dt \quad Ec. 3$$

A menudo los resultados son relativizados a superficie ortogonal al flujo de agua de ánodo y/o DQO eliminada para poder establecer comparaciones según el parámetro densidad de corriente (I_d).

$$I_d \text{ (mA / m}^2\text{)} = \frac{\frac{E_{cell}}{R_{ext}}}{Sup_{\text{ánodo}}} \quad Ec. 4$$

$$\frac{I_d}{DQO_{elim}} \text{ (mA/m}^2 \cdot DQO_{elim}\text{)} = \frac{\frac{E_{cell}}{R_{ext}}}{Sup_{\text{ánodo}} \cdot DQO_{elim}} \quad Ec. 5$$

Para el proceso de capacitación eléctrica, se propone la siguiente ecuación de cara al cálculo de la potencia generada en la rama de descarga.

$$AreaDescarga \text{ (W} \cdot \text{s)} = \int_{t_0}^{t_1} \frac{E_{cell}(t)^2}{R_{ext}} \cdot dt - \frac{E_{cell_{t_1}}^2}{R_{ext}} \cdot (T_1 - T_0) \quad Ec. 6$$

Donde:

t_0 = tiempo inicio descarga (seg).

t_1 = tiempo fin descarga (seg).

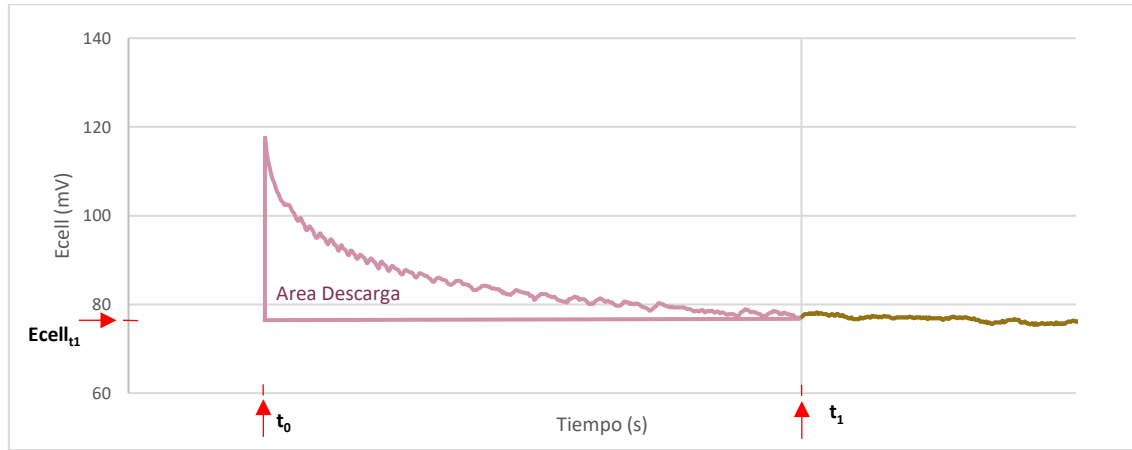


Figura 15.- Curva típica de capacitación y parámetros necesarios para el cálculo.

En el Figura 15 se muestra una curva típica de biocapacitación, que sirve de apoyo para la comprensión del cálculo del área de descarga. Se ha de señalar que la determinación del tiempo en el cual la descarga finaliza, a veces es algo arbitraria y debe ser fijado mediante la observación minuciosa de repeticiones del experimento.

De cara una posible aplicación real, el cálculo del área de descarga, no sería un parámetro de indicación razonable ya que se necesitaría una potencia de cálculo relativamente alta. Se propone la ecuación 7 (OC-CC), que simplifica los cálculos y representa la variación en mV de la rama de descarga desde el inicio de la misma hasta la lectura siguiente.

$$OC - CC \text{ (mV)} = E_{cell_{t_0}} - E_{cell_{t_0+1}} \quad Ec. 7$$

El último parámetro se va a analizar, es el Voltaje de Circuito Abierto (OCV), este valor representa la diferencia de potencial entre ánodo y cátodo cuando se abre el circuito de una pila

microbiana. Según diversos autores este parámetro es el potencial de oxidación reducción del sistema, y por tanto estaría relacionado con la materia orgánica presente en el humedal.

4.11 Análisis de la demanda química de oxígeno

La demanda química de oxígeno (DQO) mide la cantidad de oxígeno equivalente a la materia orgánica que contiene una muestra que es susceptible a ser oxidada mediante un oxidante químico fuerte. Se expresa en miligramos de oxígeno por litro de muestra. Así, la DQO permite caracterizar la cantidad de materia orgánica que contiene una muestra dada.

El método utilizado para la determinación de la DQO es el método colorimétrico de reflujo cerrado descrito en APHA-AWWA-WEF (2012), en el que se usa el dicromato potásico como agente oxidante.

Los equipos utilizados en estos análisis han sido una placa térmica (Bloc Digest 20, J.P. Selecta) para la digestión de las muestras y un fotómetro (MD600, Lovibond) para la lectura de los resultados.

5. Metodología

5.1 Determinación configuración catódica óptima.

Los experimentos mostrados a continuación, estuvieron orientados a cumplir una parte del [objetivo específico 1](#) de este trabajo, se llevaron a cabo desde el 10 de octubre al 3 de diciembre de 2017 y se utilizaron las configuraciones catódicas detalladas en el capítulo anterior. Se analizó la influencia de varios factores en el rendimiento general de la pila microbiana:

5.1.1 Cantidad de colector de electrones.

La hipótesis de partida es que una mayor cantidad de colector de electrones se traduce en un mayor rendimiento general (m²de colector/m²de cátodo). Esta hipótesis fue probada en con los [experimentos 1, 2, y 3](#). El colector de electrones en todos los casos fue una malla metálica fabricada en acero inoxidable (Marine Grade 316L) que sirve de soporte al material granular catódico, la variable que cambiará en cada experimento es la cantidad de malla metálica en el interior de este.

5.1.2 Material catódico.

Se espera que una mayor conductividad se traduzca en un mayor rendimiento catódico. En este sentido se utilizarán materiales basados en carbono como la antracita y el grafito. Por otra parte, se analizará la facilidad del material para albergar poblaciones bacterianas en su superficie, una mayor biocompatibilidad, daría como resultado el establecimiento de un biocátodo a medio plazo que mejoraría el rendimiento. En este sentido se emplearán la grava y la escoria metálica. Los distintos rendimientos de los materiales catódicos ensayados fueron evaluados de forma paralela a todos los experimentos relativizando la producción eléctrica de cada configuración a la superficie del cátodo y la DQO eliminada en el transecto. Además, se probaron específicamente los dos materiales con características más prometedoras (grafito y antracita) en el [experimento 5](#).

5.1.3 Superficie catódica.

Se espera que una menor superficie y por lo tanto mayor distancia ánodo cátodo en la zona superficial del humedal, reduzca los cortocircuitos. Por otra parte, como se ha podido observar previamente, la mayor distancia ánodo cátodo, aumenta las resistencias internas del sistema disminuyendo su rendimiento. Se buscará, si existe un equilibrio entre estos dos factores. Con el fin de evaluar la influencia de la superficie catódica en el rendimiento de la pila microbiana se llevó a cabo el [experimento 4](#).

Los ensayos se llevaron a cabo en pilas microbianas dispuestas en el primer y segundo tercio de los humedales piloto descritos anteriormente y considerados réplicas, de estos se realizaron mediciones cada 15 minutos del voltaje (resistencia externa 220 Ohms) mediante el [datalogger Campbell CR1000](#). Los resultados del análisis de la DQO eliminada en otros 4 humedales considerados también réplicas han servido para relativizar los resultados.

La unidad utilizada para expresar los resultados será $\text{mA/m}^2 \cdot \text{kg DQO eliminada}$, ya que de esta forma se evalúa únicamente el rendimiento de cada configuración y se eliminan las incertidumbres que provoca la variabilidad diaria en la concentración de materia orgánica y una mayor o menor superficie según la configuración estudiada.

Los resultados de los diferentes experimentos realizados se mostrarán agrupados por hipótesis de partida.

5.2 Determinación configuración anódica óptima.

Para escoger el material anódico ([objetivo específico 1](#)) y comprobar la eficacia del sistema de ánodos apilados en altura, se llevó a cabo un test de funcionamiento con la [pila multi-ánodo](#) en el [reactor de metacrilato](#) descritos ambos anteriormente. La alimentación de sistema se llevó a cabo de forma continua con agua residual urbana decantada y en paralelo con los sistemas que conforman la planta piloto. Los materiales sobre los que se llevó a cabo este análisis fueron:

- Grafito granular, por haber demostrado su eficacia como material granular conductor.
- Mezcla 50/50 en volumen de grafito y grava, para combinar las propiedades de los dos materiales, grava como bio-soporte y grafito como conductor.
- Grava, debido a sus propiedades como bio-soporte.

El experimento se llevó a cabo durante 21 días (7/2/2018 – 28/2/2018). Se utilizó un [datalogger Campbell Cr1000](#) programado para realizar las 9 lecturas diferenciales de voltaje correspondientes a cada ánodo ($R_{ext}=220\Omega$) con una frecuencia de cinco minutos (Figura 16). Se analizó la señal eléctrica de cada ánodo clasificándola por material y altura.

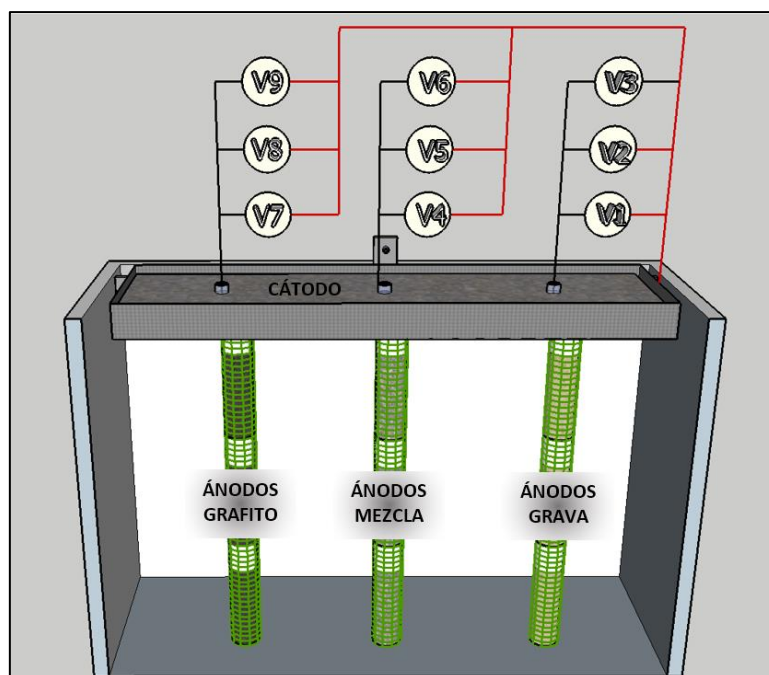


Figura 16.- Configuración de las pilas microbianas para la optimización del material anódico.

5.3 Caracterización hidráulica de un humedal mediante pilas microbianas.

La hipótesis del experimento que servirá para comprobar el [objetivo específico 3](#), reside en el hecho de que las pilas microbianas producen señal eléctrica, sólo si les llega materia orgánica, y ésta, sólo está presente (o lo está en mayor medida) proporcionalmente al flujo hidráulico. De esta forma, y comparando a largo plazo la producción de energía eléctrica de una zona del humedal con otra, se podría saber cuál de las dos ha tenido mayor cantidad de materia orgánica disponible, y, por lo tanto, por cuál de las dos ha pasado más caudal de agua residual. En una zona muerta del humedal, el flujo de agua, y por tanto la cantidad de materia orgánica disponible habrá sido muy pequeña y consecuentemente, la actividad eléctrica también lo será. Así mismo en los flujos preferenciales existirá mayor caudal y mayor actividad eléctrica que en otras zonas del lecho.

5.3.1 Configuración del sistema.

Para este experimento se utilizó un [humedal a escala piloto](#) descrito previamente, donde se insertaron 3 sets de pilas de grafito que no se habían usado previamente y que representan las tres secciones transversales del humedal (Figura 17). Cada set de pilas estuvo formado por un cátodo conectado a nueve ánodos, que hicieron las funciones de sensores. Esta configuración cátodo-multiánodo, permitió comparar la actividad eléctrica de cada ánodo respecto del resto de ánodos que componen el set en el que estaban integrados dado que el potencial catódico fue común para todos ellos. La elección tanto del material como la geometría ánodo/cátodo provienen del [objetivo específico 1](#) de este trabajo.

El experimento se llevó a cabo durante 100 días, periodo durante el cual el humedal fue alimentado con agua residual real decantada de forma continua a un caudal de 5 litros/día. La producción eléctrica de las pilas se analizó mediante la recolección cada 5 minutos, de las 27 lecturas diferenciales de voltaje. Para ello se utilizó el [datalogger Campbell CR1000](#) equipado con un multiplexor.

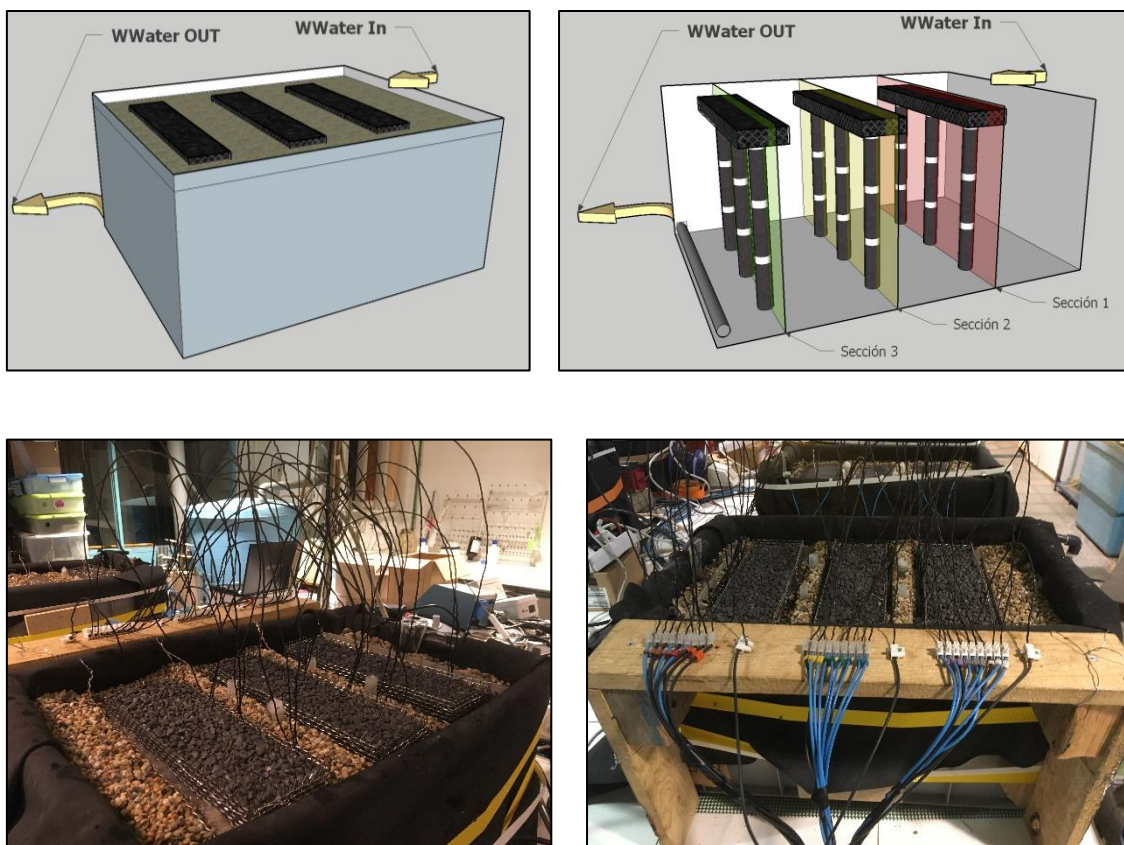


Figura 17.- Instalación pilas multi-ánodo para la determinación del estado hidrodinámico del humedal

La nomenclatura para cada una de las pilas y que se utilizará en las gráficas de la parte de resultados es la que se muestra en la Figura 18 a continuación:

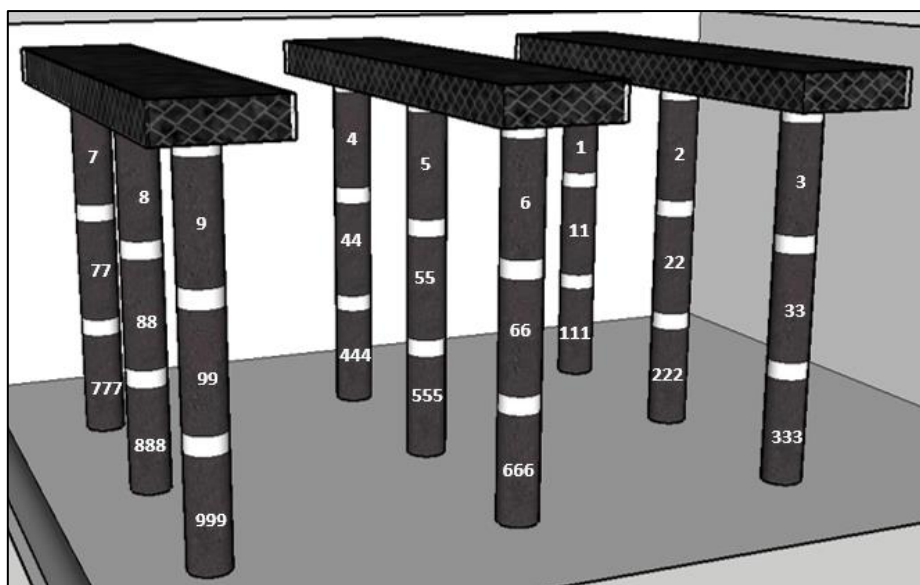


Figura 18.- Nomenclatura pilas utilizadas en para la caracterización hidráulica

5.3.2 Modelo de flujo.

Se llevó cabo la simulación y el análisis de la curva de paso del trazador a través del sistema mediante el software AQUASIM, según un modelo basado en los porcentajes de producción eléctrica de cada ánodo.

Para este modelo de flujo se dividió el humedal en 27 volúmenes de 0.71 litros, que representan los 27 ánodos que se utilizaron como sensores. Cada volumen se idealizó como un reactor de mezcla completa siguiendo las recomendaciones descritas en la literatura (Levenspiel, O. 1999).

El caudal que pasa por cada sección transversal de humedal, dividida en 9 volúmenes y representada por un set de pilas, es el caudal nominal (Q_t). De esta forma, siguiendo la lógica planteada en la primera hipótesis, el caudal (Q_i) que atraviesa cada uno de los nueve volúmenes en los que está dividida la sección, es proporcional al porcentaje de producción eléctrica del ánodo correspondiente ($\%Pe_i$).

$$Q_i = Q_t \cdot \frac{\%Pe_i}{100}$$

Por otra parte y para hacer la composición del flujo entre secciones, se siguió la ecuación de continuidad [$Q_{in} - Q_{out} = 0$] para cada volumen de control. Además, se estableció que el flujo saliente de un determinado volumen se dirige hacia el situado inmediatamente delante y al situado en la diagonal inmediata inferior, siguiendo la lógica del flujo principal planteado en las hipótesis, como se muestra en la imagen. No se consideró la existencia de flujos transversales excepto que la ecuación de continuidad ($\sum Q_i = 0$) en un determinado punto lo hiciera necesario. Finalmente, y para validar el modelo de composición de caudales se comprueba la ecuación de continuidad en cada sección transversal. En la siguiente imagen se pueden apreciar los 27 volúmenes en los que se dividió el humedal de estudio y las conexiones teóricas planteadas en el modelo.

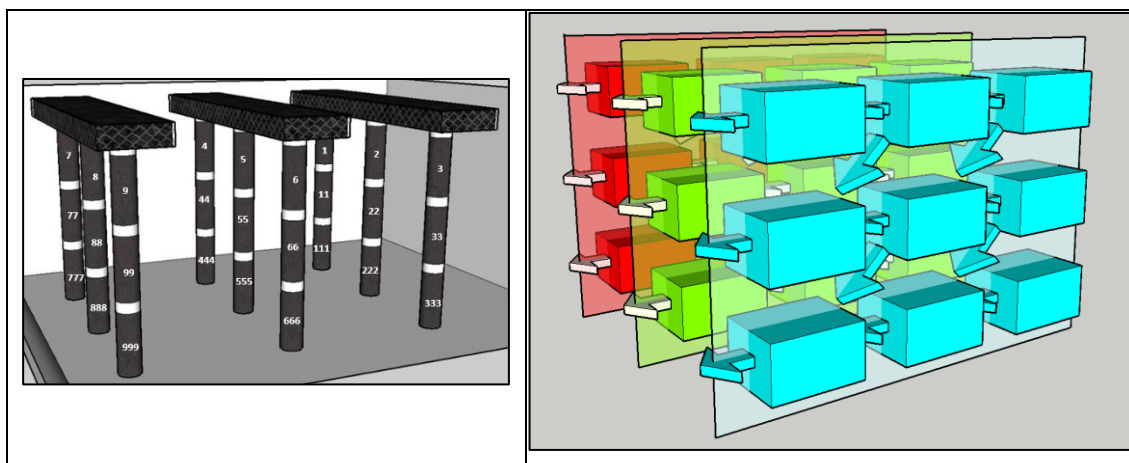


Figura 19.- Conceptualización del modelo de flujo

Una vez planteado el modelo, se simuló una determinada inyección de sal común como compuesto trazador, la cual servirá para verificarlo más adelante con un estudio de trazadores. De forma previa, se comprobará que el tiempo de retención hidráulico se adecua a lo esperado en este humedal.

El tiempo medio que una partícula permanece en el humedal, se conoce como Tiempo de Retención Hidráulico medio (TRH) y tiene la siguiente expresión (Headley and Kadlec, 2007):

$$TRH_{medio} = \frac{\int_0^{\infty} t \cdot C(t) dt}{\int_0^{\infty} C(t) dt}$$

Los datos de la inyección que se simuló y que se propone para el estudio de trazadores posterior, se presentan en la siguiente tabla:

Inyección de trazador propuesta	
Tipo de trazador	NaCl (sal común)
Caudal nominal	0.22 L/h
Concentración inyección	0.35 g/L
Caudal de inyección	0.80 L/h
Volumen a inyectar	0.9 L

5.4 Bio-indicación de materia orgánica mediante la capacitación eléctrica de un biofilm.

En este experimento se aborda el [objetivo específico 4](#) del trabajo y se llevó a cabo utilizando los [reactores de PVC](#) y las [pilas multi-ánodo para bio-indicacion](#) descritas en materiales y métodos.

La hipótesis fundamental reside en que los electrones acumulados en el proceso de carga, y por lo tanto medidos en la descarga, son fruto de la oxidación de materia orgánica por parte de las bacterias exoelectrogénicas durante ese periodo. Con este experimento, por tanto, se pretende establecer una correlación entre las diferentes curvas de descarga medidas y la DQO presente en el sistema.

5.4.1 Configuración del sistema.

Dentro de cada reactor se insertó una pila microbiana representada en la Figura 20.- Configuración experimento de bio-indicación. A-Fotografía de los sistemas utilizado. B-Dibujo explicativo de los componentes.

y compuesta por un ánodo cilíndrico ($\varnothing = 2 \text{ cm}$, $H = 20\text{cm}$), y un cátodo prismático situado en la interficie agua-aire ($H = 5\text{cm}$, $W = 10\text{cm}$, $L = 10\text{cm}$)(Air-cathode configuration). Tanto el ánodo como el cátodo estuvieron compuestos por grafito granular proveniente de residuo de electrodo de fundición ($D50 = 7\text{mm}$), y malla metálica de acero inoxidable (marine grade A316 L), ya que se considera que en función de los resultados obtenidos, es la configuración que más se adapta a los objetivos.

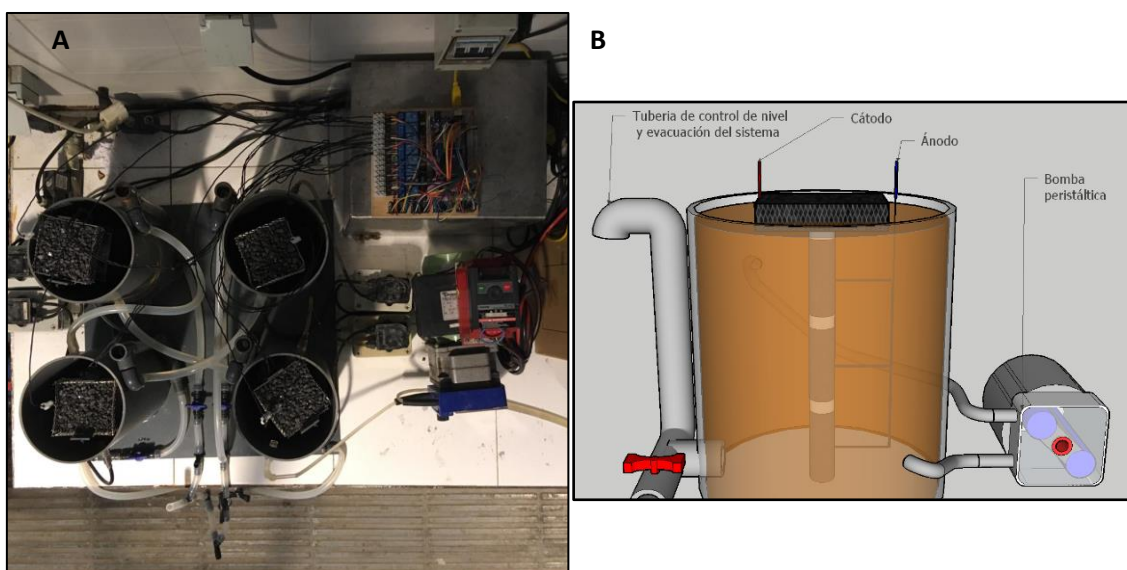


Figura 20.- Configuración experimento de bio-indicación. A-Fotografía de los sistemas utilizado. B-Dibujo explicativo de los componentes.

Previo al inicio, se alimentó diariamente al sistema con agua residual urbana y se mantuvieron las pilas conectadas a una resistencia de 220 Ohms durante dos semanas para promover el establecimiento de un biofilm en los ánodos y establecer condiciones iguales en todos los sistemas.

Se diseñó un experimento con una duración de 4 días durante el cual, la alimentación de los sistemas fue diaria de tipo discontinuo. El primer día se captaron 60 litros de agua residual urbana, 20 de ellos se utilizaron para alimentar los sistemas y el resto se almacenó en condiciones de baja temperatura para preservar sus características. Los días 2, 3 y 4, los sistemas se alimentaron con diluciones progresivamente mayores (75%, 50% 25%) de esta agua residual madre. Las diluciones se llevaron a cabo con agua des ionizada, modificando la conductividad de cada dilución mediante la adición de sal común (NaCl), hasta equipararla con la conductividad del agua residual sin diluir. De esta forma se reduce la incertidumbre que puede provocar el efecto de la conductividad eléctrica sobre la capacidad de indicación de materia orgánica (Logan, 2008; Peixoto et al. 2011)

El experimento se llevó a cabo por duplicado, se analizó diariamente la conductividad del agua de alimentación (conductivimetro portátil CLM 381) y posteriormente la cantidad de materia orgánica ([DQO](#)) en laboratorio (APHA, 2005). A continuación, se muestran los parámetros analizados para cada día de experimento.

		DQO (mg/l)	Conductividad (ms/cm)
Semana 1	Día 1	631,0	3,05 ms/cm
	Día 2	439,7	
	Día 3	323,3	
	Día 4	193,8	
Semana 2	Día 1	385,8	2,10 ms/cm
	Día 2	260,0	
	Día 3	193,4	
	Día 4	123,5	

Figura 1.- Características físico-químicas del agua utilizada en los experimentos.

5.4.2 Registro de datos y control del ciclo carga-descarga.

La configuración del [sistema de carga, descarga y recogida de datos](#) se encuentra esquematizado en la Figura 21. Este sistema, detallado en materiales y métodos, utiliza un conversor analógico-digital de alta resolución para medir la diferencia de voltaje generada a ambos lados de la resistencia por los electrodos (ánodo y cátodo) de la pila. Aunque algunos autores escogen frecuencias de lectura muy pequeñas (J. Sim et al. 2018), pruebas realizadas durante la puesta en marcha de este experimento demostraron que una frecuencia de lectura de dos segundos era suficiente. Para el control de los ciclos de carga y descarga del biofilm, se utilizó un relé de tres polos, que hizo las funciones de interruptor, abriendo/cerrando el circuito eléctrico para provocar así la carga/descarga de los electrones acumulados.

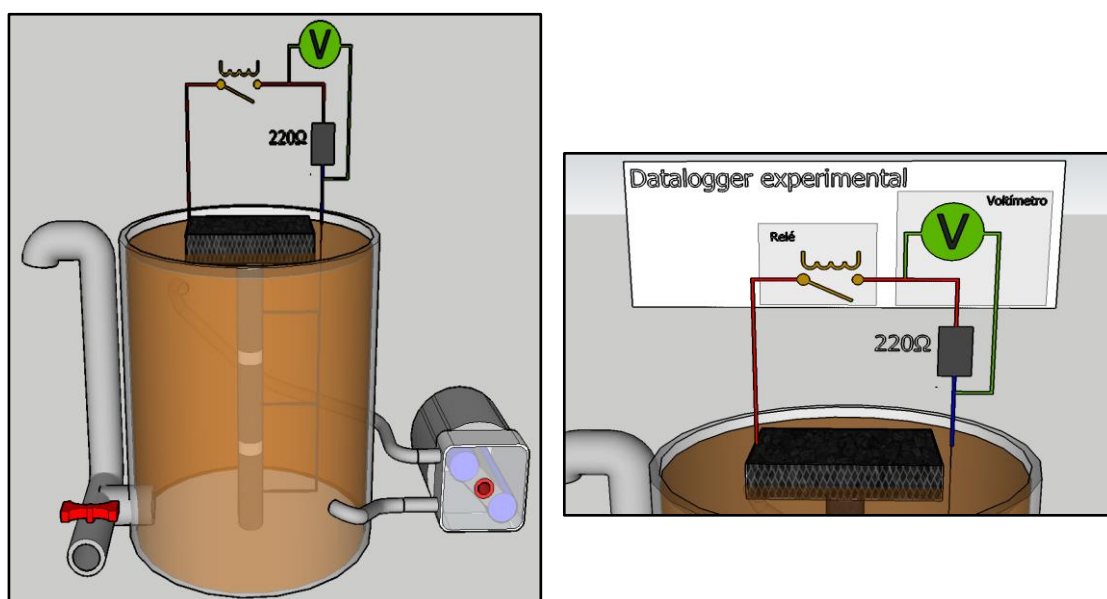


Figura 21.- Detalle conexión adquisidor de datos en el experimento de bio-capacitación.

La determinación del tiempo óptimo de carga del biofilm, es un punto clave que puede determinar la aplicabilidad de la técnica (J. Sim et al. 2018). Durante la fase de puesta a punto de los sistemas, se llevaron a cabo diferentes pruebas para escoger un tiempo de carga adecuado. En principio, el tiempo de carga óptimo sería el más pequeño posible que además acumule una cantidad suficiente de electrones como para ser observada tras la descarga. En la Figura 22, se pueden observar las varias ramas de descarga para los diferentes tiempos de carga testados utilizando la misma agua residual.

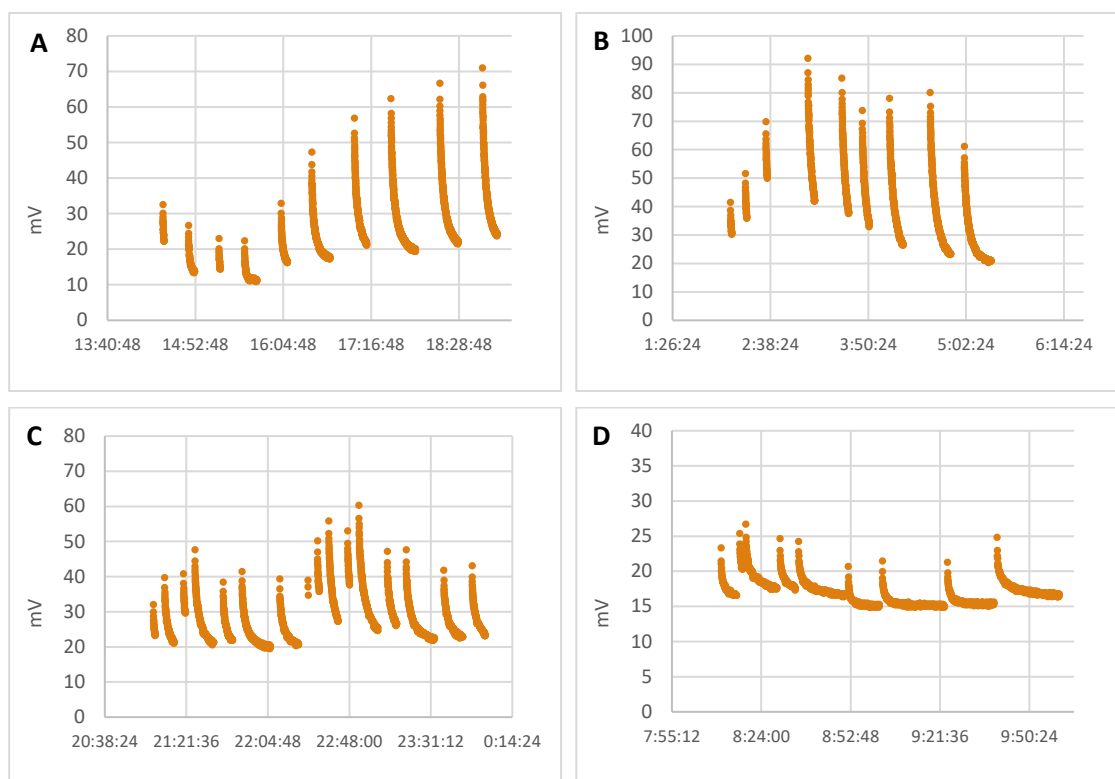


Figura 22.- Test de carga del biofilm, comparación entre las magnitudes de las descargas en función del tiempo de carga. A-tiempo de carga 20 min. B-tiempo de carga 10 min. C-tiempo de carga 5 min. D-tiempo de carga 1 min. Eje Vertical: voltaje (mV), eje horizontal: tiempo (hh:mm:ss). Datos recogidos durante el mismo día en el cual el agua residual fue la misma.

Se observa que existe una fuerte dependencia entre el tiempo de carga y la magnitud y duración de las descargas, además se piensa que es necesario completar la descarga antes de provocar el sucesivo ciclo de carga para evitar un posible efecto acumulativo que pueda falsear las medidas. A raíz del análisis de estos resultados se concluyó que, para los 4 tiempos de carga propuestos, las descargas asociadas tendrían una magnitud aceptable como para poder ser medida, siendo deseables descargas más grandes que las producidas tras un minuto de carga. Por todo ello el tiempo de carga que se decidió aplicar en base a los criterios anteriormente formulados fue de 3 minutos, se considera que este tiempo mantiene el equilibrio entre una buena resolución de los datos y el carácter continuo de monitorización que se espera de una aplicación futura de esta herramienta.

Por otra parte, como puede intuir en el Figura 22 C y D, es esperable que la descarga de los electrones acumulados en el biofilm durante los 3 minutos de carga propuestos, se produzca de forma completa durante los 10 minutos siguientes, por lo que sería suficiente con espaciar cada ciclo de carga-descarga 15 minutos entre sí. Sin embargo, se espaciará una hora cada ciclo con el fin de analizar no solo la rama de descarga, si no también, el voltaje generado de forma regular (Ecell) en la pila como se aprecia en la Figura 23, datos que podrán ser contrastados con los obtenidos en estudios previos (Corbella et al. 2019).

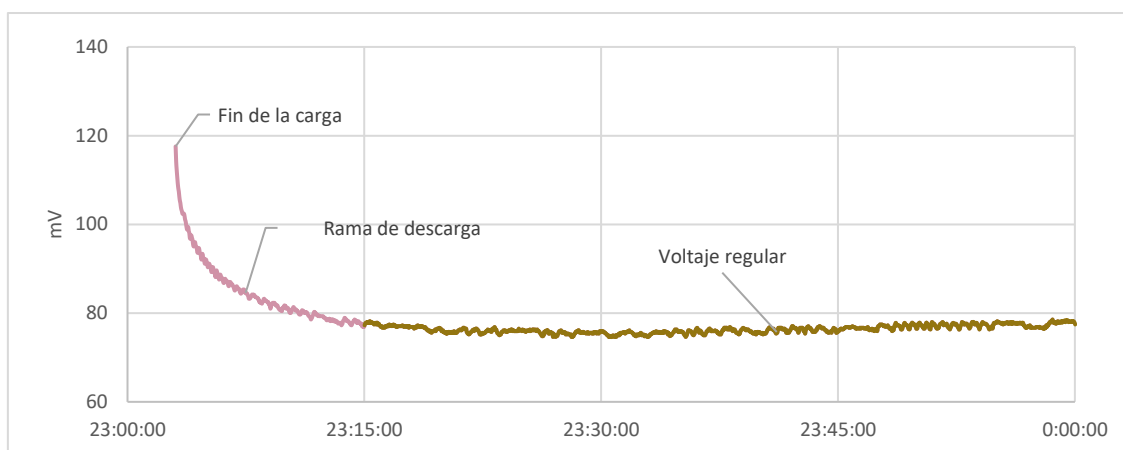


Figura 23.- Detalle curva de descarga del bio-film. Eje vertical: Voltaje, eje horizontal: Tiempo (hh:mm:ss).

Se analizó tanto el área de cada una de las ramas de descarga como el promedio del voltaje generado de forma regular (Ecell). Además, se analizaron otros parámetros propios de las curvas de bio-capacitación como (OC-CC) y el Voltaje de Circuito Abierto (OCV). Para cada réplica y día, se promediaron los 24 valores obtenidos a lo largo del mismo. Posteriormente se promediaron los valores correspondientes a cada una de las cuatro réplicas y se calculó la desviación estándar de la media.

6. Resultados

6.1 Configuración catódica óptima.

Se presentan a continuación los resultados de los experimentos realizados para cumplir lo relativo a la optimización catódica en el [objetivo específico 1](#). La metodología es la descrita en [‘5.1 Determinación de la configuración catódica óptima’](#).

6.1.1 Influencia del área del cátodo sobre la producción eléctrica.

En la Figura 24, se muestran los resultados obtenidos en el [experimento 4](#) descrito previamente. Estos muestran que una superficie catódica de 300cm² se traduce para los sistemas estudiados en una mayor densidad de corriente. A pesar de que con esta configuración es probable que haya un mayor grado de cortocircuitaje en la parte superficial del humedal, donde los conductores de los ánodos atraviesan desnudos la superficie del agua a escasos 2 cm del cátodo, una superficie catódica de 180 cm² genera una limitación en la reacción de oxidación-reducción que disminuye la densidad de corriente.

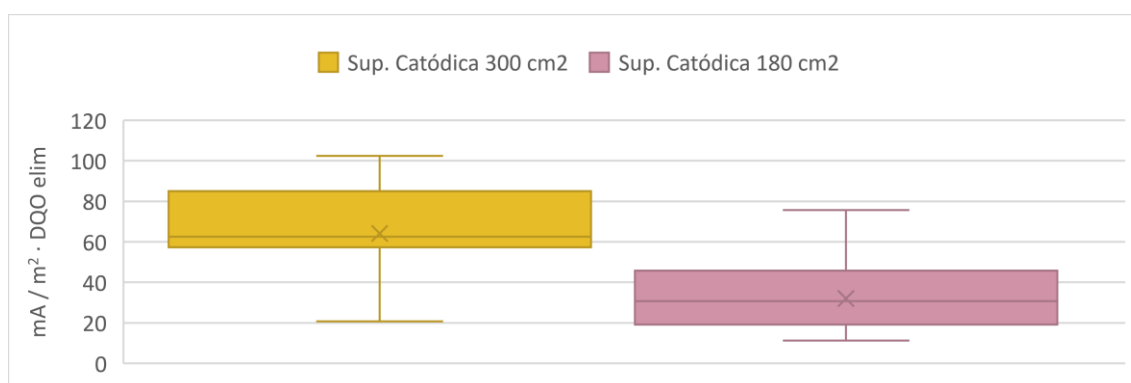


Figura 24.- Influencia de la superficie catódica en el rendimiento de la pila microbiana. Comparación entre la producción eléctrica de dos pilas microbianas con cátodos de 300 y 180 cm² respectivamente. La longitud de la caja representa el rango intercuartílico (50% de los datos), la línea horizontal la mediana y la cruz la media de los datos. El límite (bigote) superior contiene los datos por encima del tercer cuartil más 1.5 veces el rango intercuartílico. El límite inferior contiene los datos por debajo del primer cuartil menos 1.5 veces el rango intercuartílico. Los datos que sobrepasan estos límites se consideran anomalías y no se representan.

6.1.2 Influencia de la cantidad de malla metálica sobre la producción eléctrica.

Los resultados obtenidos de los [experimentos 1 y 4](#) agrupados en la siguiente gráfica por cantidad de malla metálica, arrojaron unos resultados que de forma clara confirman la relación entre cantidad de malla metálica y densidad de corriente para materiales con poca conductividad.

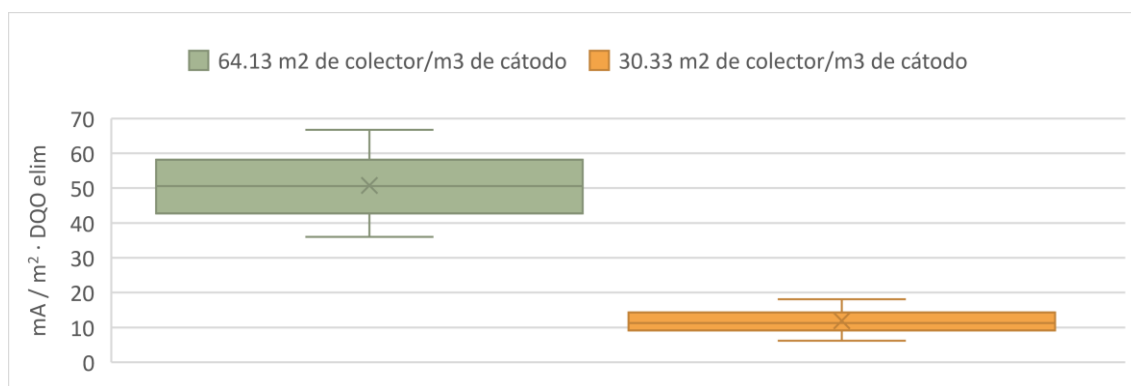


Figura 25.- Influencia de la superficie específica de colector de electrones en el rendimiento de una pila microbiana. Comparación de la producción eléctrica de dos pilas microbianas con cátodos con distintas densidades de colector de electrones. La longitud de la caja representa el rango intercuartílico (50% de los datos), la línea horizontal la mediana y la cruz la media de los datos. El límite (bigote) superior contiene los datos por encima del tercer cuartil más 1.5 veces el rango intercuartílico. El límite inferior contiene los datos por debajo del primer cuartil menos 1.5 veces el rango intercuartílico. Los datos que sobrepasan estos límites se consideran anomalías y no se representan.

Los materiales empleados en estos experimentos (grava y escoria metálica), aun siendo bio-compatibles, son muy poco conductores lo que significa que son capaces de albergar una población bacteriana, pero tienen que disponer de un conductor cerca para poder cerrar el circuito eléctrico. En una determinada zona de cátodo, donde el conductor no esté accesible, se generará un área poco eficiente eléctricamente representadas en rojo en la Figura 26.



Figura 26.- Representación zonas eléctricamente muertas en cátodos con alta densidad de malla metálica y materiales no conductores.

Si el material catódico fuera conductor, no serían aplicables estos resultados ya que el circuito eléctrico se cerraría a través del propio material granular donde se albergan las bacterias. En este sentido se pensó en la gran ventaja que sería utilizar materiales catódicos basados en carbono, de los cuales se emplearon grafito y antracita en los siguientes experimentos.

6.1.3 Influencia del material catódico sobre la producción eléctrica.

De cara a evaluar el material catódico que optimizase la producción eléctrica de la pila microbiana, se compararon los resultados obtenidos con las configuraciones [catódicas 1.0, 3.0 \(grava\)](#) y [2.0, 4.0 \(escoria metálica\)](#), con los obtenidos en el [experimento 5](#), configuraciones 5.0 (antracita) y 5.1 (grafito). Los resultados muestran una clara diferencia entre estos dos últimos materiales basados en carbono y los no-conductores. Se confirma de esta forma la hipótesis planteada según la cual un material conductor sería más apropiado como material catódico porque además de servir de bio-soporte, actuaría de conductor eléctrico.

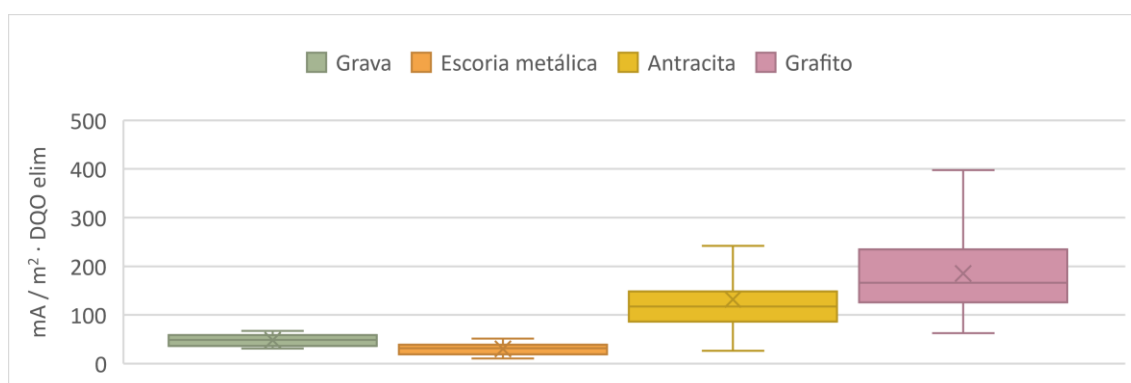


Figura 27.- Influencia del material catódico sobre el rendimiento eléctrico de una pila microbiana. Comparación de la producción eléctrica en pilas compuestas por cátodos de semejantes características pero distintos materiales. La longitud de la caja representa el rango intercuartílico (50% de los datos), la línea horizontal la mediana y la cruz la media de los datos. El límite (bigote) superior contiene los datos por encima del tercer cuartil más 1.5 veces el rango intercuartílico. El límite inferior contiene los datos por debajo del primer cuartil menos 1.5 veces el rango intercuartílico. Los datos que sobrepasan estos límites se consideran anomalías y no se representan.

Respecto a las diferencias entre el rendimiento eléctrico de la antracita y el grafito, se deben fundamentalmente a la naturaleza del grafito como carbono puro, lo que se traduce en una mayor conductividad eléctrica que la antracita con un contenido en carbono del 95%. Además, la existencia de planos cristalinos en la antracita, es indicadora de una menor superficie específica y por lo tanto una menor capacidad de albergar poblaciones bacterianas.

En base a los resultados analizados anteriormente, se determinó que la configuración catódica óptima es aquella que está formada por un cátodo de 300x100x2mm (Sup. Planta = 300 cm²) relleno de grafito granular. Esta configuración se utilizó en los experimentos posteriores.

6.2 Configuración anódica óptima.

Los siguientes resultados corresponden a los experimentos realizados para responder la parte relativa a la optimización del ánodo enmarcada en el [objetivo específico 1](#).

Las densidades de corriente obtenidas en los ánodos testados, se muestran en la siguiente gráfica según la [configuración presentada](#) en la metodología. En este caso no se ha relativizado la densidad de corriente a la DQO eliminada porque los ánodos se encontraron durante todo el periodo de estudio en el mismo reactor y por tanto en contacto con la misma agua. Se puede observar que los ánodos construidos con grafito tienen un rendimiento eléctrico notablemente mayor que los de grava. Los ánodos compuestos por una mezcla de grafito y grava, muestran unos valores intermedios y más cercanos al rendimiento observado en los de grafito. Esto era esperable ya que como se demostró en el experimento previo, la mayor conductividad del grafito se traduce en una mayor facilidad para transferir los electrones generados por las bacterias.

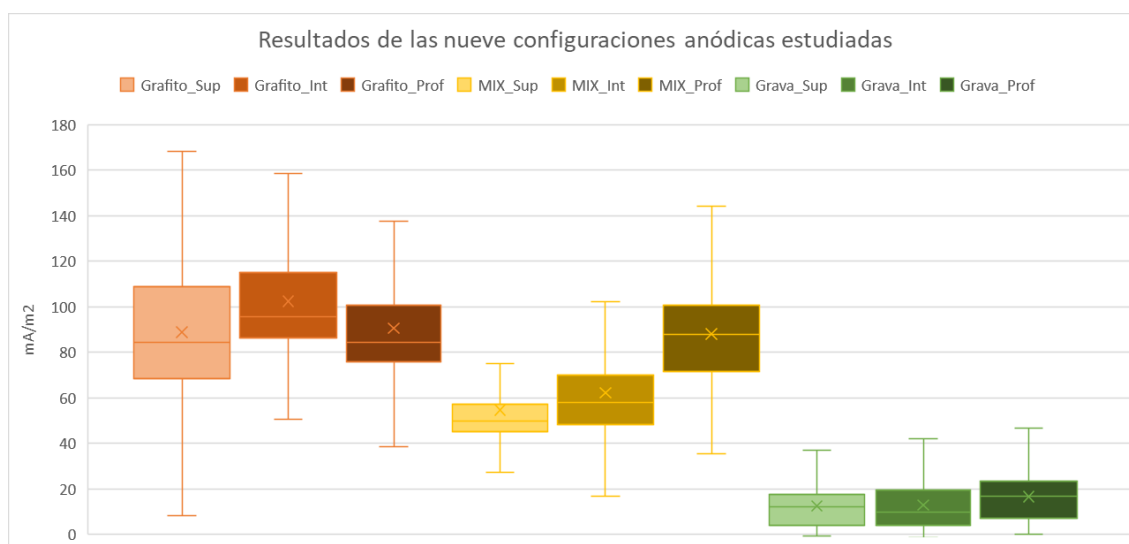


Figura 28.- Densidades de corriente obtenidas para cada ánodo de la pila multi-ánodo. Los tres primeros valores representados corresponden a ánodos de grafito dispuestos a diferentes alturas (superficial, intermedio y profundo), los tres siguientes a ánodos de mezcla grava/grafito y los tres últimos ánodos compuestos de grava. La longitud de la caja representa el rango intercuartílico (50% de los datos), la línea horizontal la mediana y la cruz la media de los datos. El límite (bigote) superior contiene los datos por encima del tercer cuartil más 1.5 veces el rango intercuartílico. El límite inferior contiene los datos por debajo del primer cuartil menos 1.5 veces el rango intercuartílico. Los datos que sobrepasan estos límites se consideran anomalías y no se representan.

Respecto a las diferencias observadas en altura, en principio cabría esperar que una mayor distancia entre ánodo y cátodo supusiese peor comportamiento eléctrico, pero en este caso, predomina la diferenciación por densidad de la materia orgánica, y hace que los ánodos más profundos dispongan de más sustrato y por lo tanto generen más corriente eléctrica que los intermedios y superficiales.

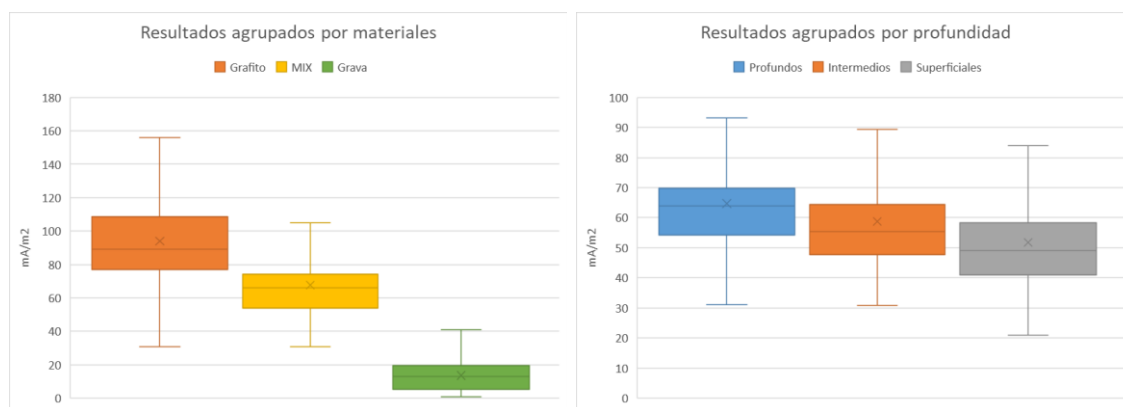


Figura 29.- Densidades de corriente obtenidas con la pila multiánodo agrupadas por material y profundidad. La longitud de la caja representa el rango intercuartílico (50% de los datos), la línea horizontal la mediana y la cruz la media de los datos. El límite (bigote) superior contiene los datos por encima del tercer cuartil más 1.5 veces el rango intercuartílico. El límite inferior contiene los datos por debajo del primer cuartil menos 1.5 veces el rango intercuartílico. Los datos que sobrepasan estos límites se consideran anomalías y no se representan.

En Tabla 2 se muestran los índices de correlación entre las series temporales correspondientes a los 9 ánodos estudiados. Estos, muestran una relación débil entre el funcionamiento de los ánodos de grava y grafito, lo que podría indicar que a nivel interno los mecanismos de generación de electrones en ánodos de ambos materiales, se encuentran limitados por distintos parámetros. Los ánodos mezcla, se encuentran en un camino intermedio, apreciándose una mayor semejanza con los ánodos de grafito.

		Grafito			MIX			Grava		
		Sup	Int	Prof	Sup	Int	Prof	Sup	Int	Prof
Grafito	Sup		0,84	0,84	0,67	0,78	0,84	0,23	0,28	0,24
	Int	0,84		0,91	0,88	0,95	0,82	0,55	0,58	0,49
	Prof	0,84	0,91		0,91	0,92	0,73	0,54	0,56	0,44
MIX	Sup	0,67	0,88	0,91		0,91	0,78	0,77	0,78	0,69
	Int	0,78	0,95	0,92	0,91		0,76	0,65	0,69	0,57
	Prof	0,84	0,82	0,73	0,78	0,76		0,55	0,57	0,61
Grava	Sup	0,23	0,55	0,54	0,77	0,65	0,55		0,98	0,94
	Int	0,28	0,58	0,56	0,78	0,69	0,57	0,98		0,94
	Prof	0,24	0,49	0,44	0,69	0,57	0,61	0,94	0,94	

Tabla 2.- Correlaciones observadas entre los ánodos estudiados mediante la pila multi-ánodo.

6.3 Caracterización hidráulica de un humedal mediante pilas microbianas.

6.3.1 Producción eléctrica del sistema.

La producción global del humedal durante el periodo de estudio fue de 19.98 Watios, de los cuales el 11% (2.22 W) se generó en la primera sección, el 47% (9.32 W) en la segunda, y el 42% (8.44 W) restante en la tercera. Si suponemos que la degradación de la materia orgánica a través del eje longitudinal del humedal sigue una cinética de primer orden, la sección 1 debería de producir más energía eléctrica al disponer de más sustrato como se puede ver en la Figura 30, sin embargo, en este caso y debido a que el humedal lleva casi dos años funcionando, nos encontramos con un fenómeno de colmatación electroquímica. Este fenómeno hace que la vía metabólica electrogénica se agote y la producción de electrones disminuya, en este caso afecta a la primera sección y en menor medida a la segunda como se puede ver en la gráfica. A medida que este humedal siga alimentándose de materia orgánica, la colmatación irá avanzando progresivamente.

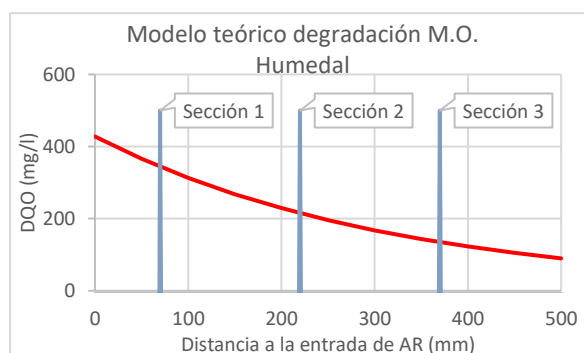


Figura 30.-Modelo teórico degradación M.O. en el humedal

Como se observa en la Figura 31 también, a partir de la cuarta semana, la producción eléctrica de las secciones menos colmatadas electroquímicamente, sufre una tendencia creciente que continua hasta el final del periodo de estudio, esto es debido al establecimiento de un biofilm que mejora la eficiencia eléctrica del sistema.

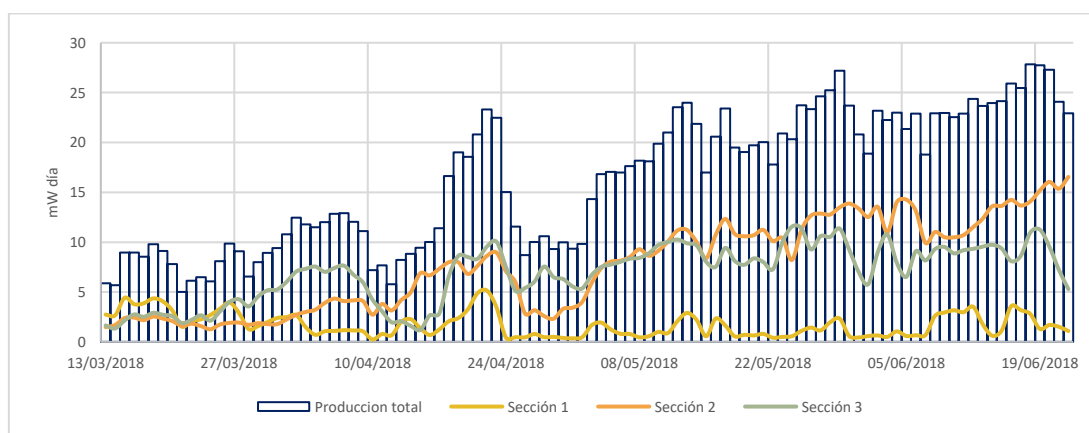
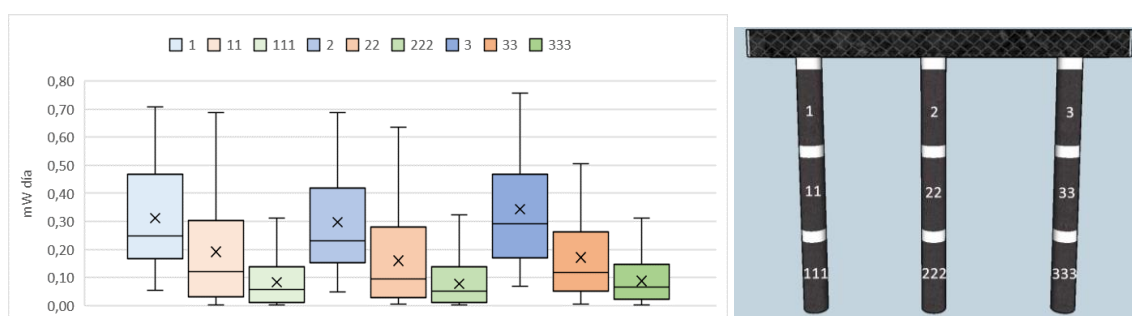


Figura 31.- Producción eléctrica del humedal por secciones y total durante todo el experimento.

6.3.2 Análisis de la producción eléctrica por secciones.

6.3.2.1 SECCIÓN 1

En la siguiente Figura se representan de forma agrupada los resultados de la producción eléctrica en mW·día de la primera sección del humedal durante todo el periodo de estudio. Se puede observar que existe una fuerte estratificación por alturas, la zona más cercana a la entrada de agua residual tiene una producción eléctrica mayor a la zona intermedia y profunda. Así mismo se aprecia el mismo patrón de producción eléctrica en profundidad.



El análisis de la producción eléctrica por profundidad muestra que la parte superficial genera el 60% del total, mientras que las zonas intermedias y profundas un 25 y un 15%, respectivamente. Esto es debido a una influencia clara de la posición de la entrada de agua residual, la cual, como es de esperar, no reparte en profundidad de forma efectiva. Respecto al reparto de la producción eléctrica en el eje transversal al flujo, se observa que las partes izquierda, central y derecha acumulan porcentajes similares 33.3, 30.9 y 35.9 % respectivamente, lo que es indicativo de un buen reparto del agua residual en este eje, hecho debido seguramente a la zona de homogeneización de la que dispone el humedal.

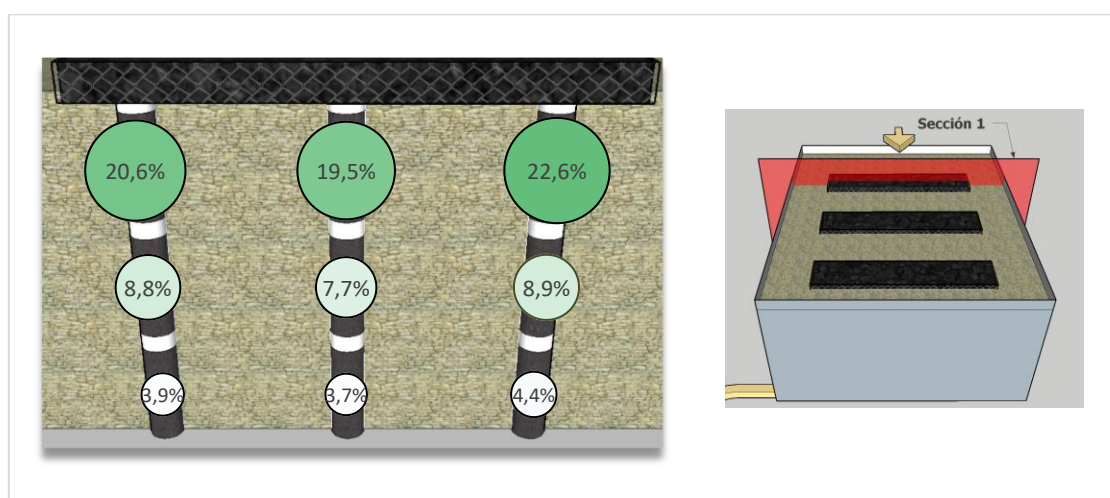


Figura 33.- Distribución producción eléctrica en la primera sección del humedal

6.3.2.2 SECCIÓN 2.

En la sección dos se pudo apreciar que la dinámica de producción eléctrica varía con respecto a la primera. Se observa una mayor homogeneización en profundidad, con ciertos patrones de producción en altura, pero no tan fuertes como en la sección 1. Esto indicaría, tal y como se previó en las hipótesis, que el flujo de agua residual en esta zona va profundizándose. La producción eléctrica no sigue las mismas dinámicas en las tres columnas de pilas, lo que podría ejemplificar fenómenos de mezcla/flujo transversal que, por otra parte, debido a una mayor distancia al flujo forzado de la entrada, son esperables.

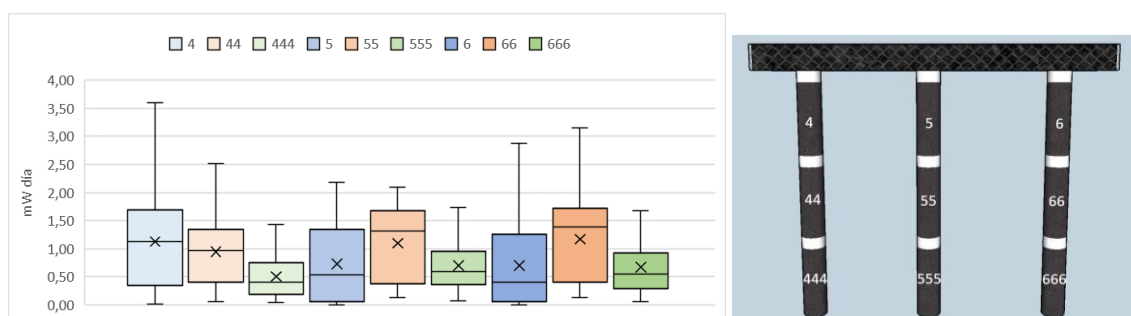


Figura 34.-Izquierda: producción eléctrica de los ánodos instalados en la sección 2 del humedal piloto. Derecha: leyenda de forma gráfica. La longitud de la caja representa el 50%, la línea la mediana y la cruz la media.

En la sección 2 la producción eléctrica de cada ánodo se encuentra más distribuida, pudiendo observarse menor estratificación con porcentajes de 30, 43 y 26.9 % en las zonas superficial, intermedia y profunda respectivamente. Los porcentajes de producción eléctrica según el eje transversal varían sensiblemente respecto a la sección 1 (33.7, 33.6 y 32.6%), lo que indica una leve pero inequívoca componente transversal del flujo entre estas dos secciones.

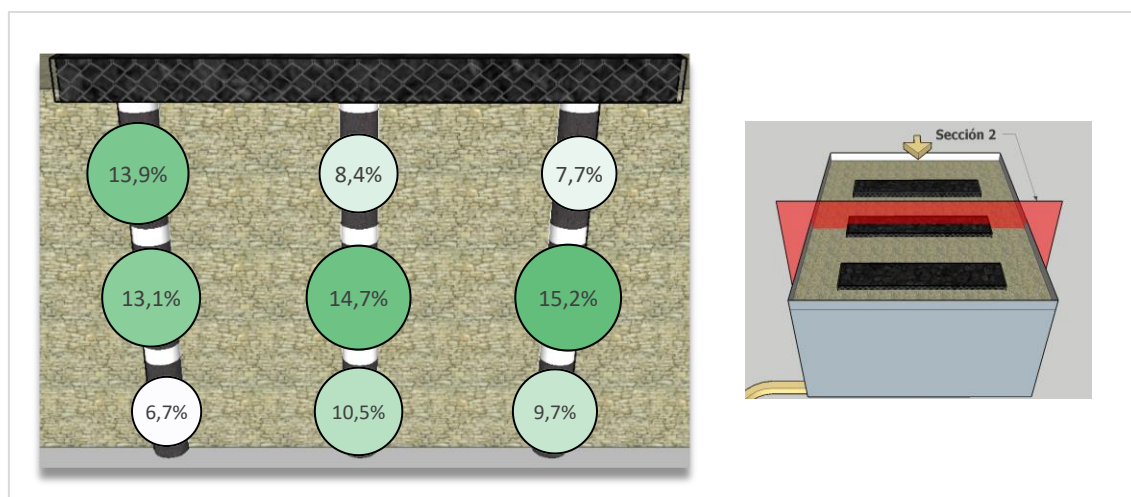


Figura 35.- Distribución producción eléctrica en la segunda sección del humedal

6.3.2.3 SECCIÓN 3.

La sección tres, cuyo flujo es esperable que este muy influenciado por la tubería de recogida de agua del efluente, la cual se distribuye de forma transversal en la parte profunda de esta sección, destaca por la escasa producción eléctrica de la zona superficial al contrario que las zonas profunda e intermedia las cuales acumulan el 98% de la producción total. Se evidencia de esta forma el fenómeno de distribución de la producción eléctrica por profundidad que se ha ido observando en las secciones previas.

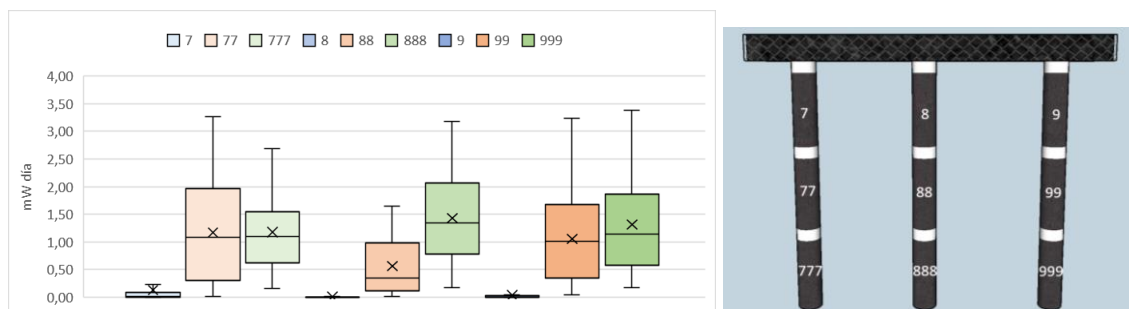


Figura 36.- Izquierda: Producción eléctrica de los ánodos instalados en la sección 3 del humedal piloto. Derecha: leyenda de forma gráfica. La longitud de la caja representa el 50%, la línea la mediana y la cruz la media.

Se vuelve a observar una distribución en el eje transversal bastante homogénea, registrándose porcentajes de producción eléctrica del 36,1, 29,7 y 34,2 % en las columnas izquierda central y derecha respectivamente. Esta distribución varía respecto a la sección anterior lo que vuelve a indicar una leve componente transversal del flujo.

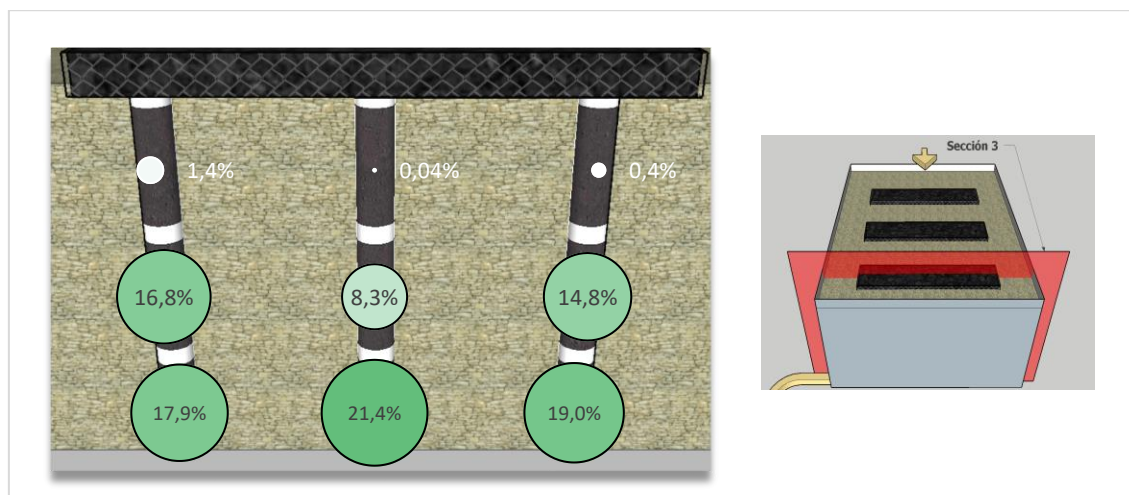


Figura 37.- Distribución producción eléctrica en la tercera sección del humedal

De la composición en tres dimensiones de los resultados anteriormente mostrados se obtiene un patrón de distribución de flujo en forma de ojo que confirma la hipótesis planteada inicialmente en relación a las condiciones hidrodinámicas del humedal bajo estudio. El cual, debido a su gran profundidad en relación a su área en planta, es propenso a generar dos zonas muertas y un flujo preferencial principal representados en la siguiente imagen por las zonas rojas y la zona verde respectivamente.

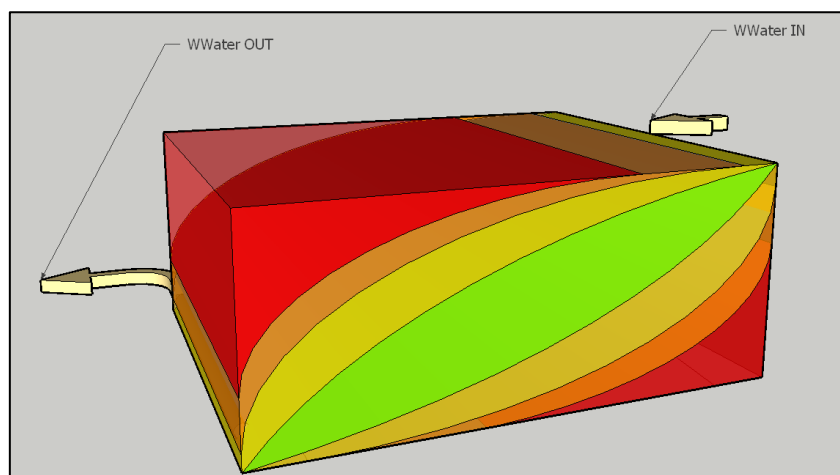


Figura 38.- Representación del patrón del flujo formado a partir de los resultados del modelo

6.3.3 Aplicación del modelo de flujo propuesto

Los resultados de la simulación de la inyección de sal propuesta en la metodología, arrojó unos resultados recogidos en la Figura 39, que representan de forma inequívoca la forma de una curva de trazadores asociada a un humedal construido. En la parte izquierda de la gráfica se observa un incremento lineal de la concentración en la salida cuyo pico se ubica a las 27 horas tras el inicio de la simulación, esta tendencia es debida de forma clara al paso del trazador por las zonas de flujo preferencial del humedal lo que tiende a asemejarse y se puede explicar como un flujo pistón Levenspiel, O. 1999. Por otra parte, la parte derecha de la gráfica, es representativa del comportamiento de las zonas muertas del humedal como reactores de mezcla completa con un flujo no estacionario, por las cuales el trazador avanza más lentamente debido al menor caudal que transcurre por estas zonas.

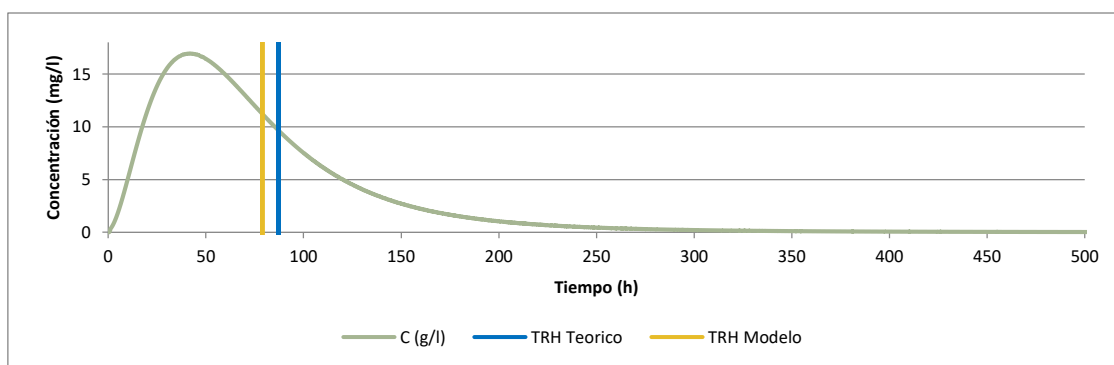


Figura 39.- Curva de respuesta del trazador obtenida de la simulación en el modelo propuesto

Observando la gráfica arrojada por el modelo, se puede estimar el tiempo necesario y la precisión de la sonda de conductividad de cara a llevar a cabo el estudio de trazadores, aunque algunos autores recomiendan esperar un tiempo de 4 veces el TRH nominal (Levenspiel, O. 1999), se puede observar que para este caso no haría falta un ensayo tan largo ya que a partir de las 300 horas de experimento la concentración de trazador en la salida se aproximará a 0.

Respecto al Tiempo de Retención Hidráulico medio, se determinó que se encontraba en las 79 horas. Esto representa una disminución de 8 horas respecto al TRH nominal que es de 87. Como se expone en Kadlec and Wallace, 2009, el TRH medio siempre será menor que el TRH teórico, debido a la inevitable aparición de ineficiencias hidráulicas desde el primer momento de operación.

6.4 Bio-indicación de materia orgánica mediante la capacitación eléctrica de un biofilm.

Los resultados de bio-indicación obtenidos en los dos experimentos, se muestran a continuación según para los cuatro parámetros eléctricos analizados en cada caso. El eje horizontal muestra la cantidad de materia orgánica del agua y el vertical la magnitud del parámetro indicador. Cada punto representa la media del parámetro analizado para las cuatro réplicas y las barras de error la desviación de esa media.

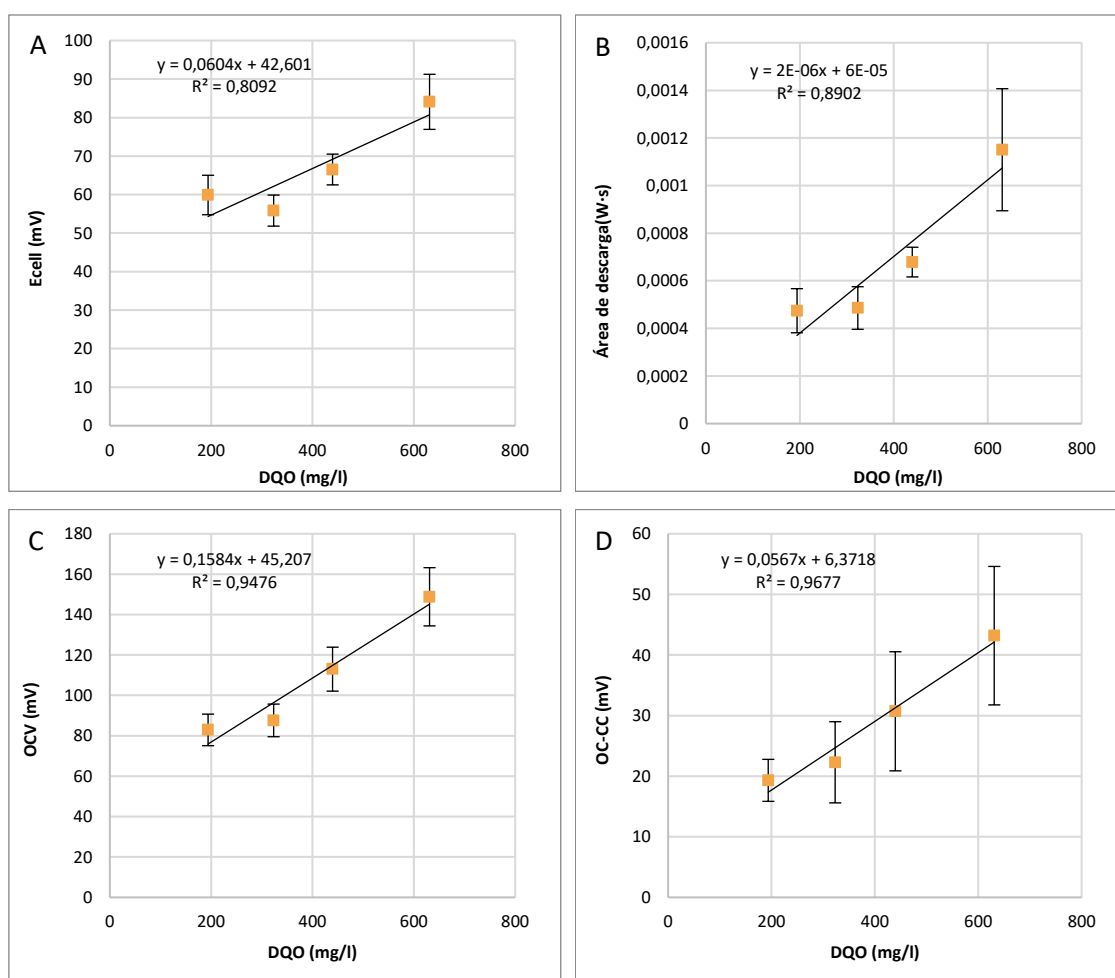


Figura 40.- Parámetros eléctricos analizados en relación a la concentración de materia orgánica del agua. A-Voltaje regular (Ecell). B-Área de descarga. C-OCV. D-(OC-CC). Cada punto representado es la media de cada parámetro para las cuatro réplicas analizadas y la barra de error, la desviación estándar de esta media. Datos correspondientes a la primera semana de experimento.

En los resultados de la primera semana de experimento (Figura 40), se aprecian diferentes grados de bio-indicación dependiendo del parámetro analizado, aunque de forma general se podría asegurar la efectividad de estos parámetros para bio-indicación a partir de una DQO de 323 mgO₂/l. Por otra parte, se puede observar como los parámetros obtenidos de la capacitación

eléctrica del biofilm (Área de descarga, OC-CC y OCV) muestran mejores correlaciones con la DQO que el parámetro Ecell tradicionalmente usado para indicación con pilas microbianas.

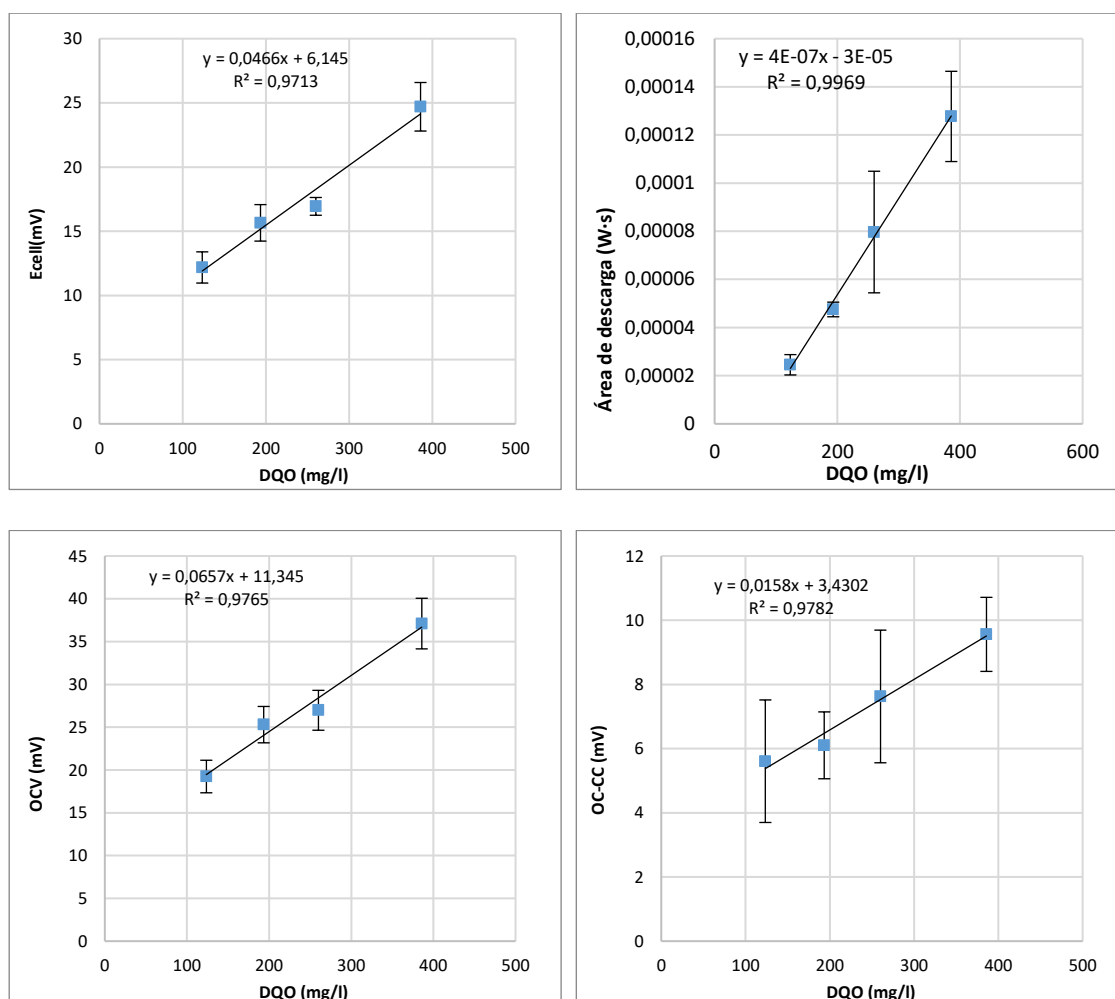


Figura 41.- Parámetros eléctricos analizados en relación a la concentración de materia orgánica del agua. A-Voltaje regular (Ecell). B-Área de descarga. C-OCV. D-(OC-CC). Cada punto representado es la media de cada parámetro para las cuatro réplicas analizadas y la barra de error, la desviación estándar de esta media. Datos correspondientes a la segunda semana de experimento.

En la segunda semana de experimento (Figura 41), se aprecian aún mejores correlaciones entre cada uno de los parámetros indicadores analizados y la cantidad de materia orgánica presente en el agua.

Otros autores (Corbella et al. 2019) han observado también un límite, en términos de DQO, por debajo del cual no es posible garantizar la bio-indicación. La razón para este comportamiento podría ser que a concentraciones bajas de DQO las bacterias exoelectrogénicas no disponen de materia orgánica biodegradable suficiente como para sobrevivir, como consecuencia, a la vez que estas bacterias mueren generan materia orgánica de la que se alimentan las bacterias de alrededor y por tanto la actividad eléctrica aumenta limitando la aplicación de esta técnica.

En este experimento este límite se detecta en la primera semana por debajo de 323 mg/l de DQO. Aunque con esta DQO en un agua residual urbana, cabría esperar un porcentaje elevado de materia orgánica fácilmente biodegradable, la conductividad tan elevada (3,05 ms/cm), hace sospechar que la DQO del agua con el que se realizaron los experimentos, se deba fundamentalmente a materia oxidable químicamente pero no asimilable por las bacterias exoelectrogénicas.

Aunque la DQO es un procedimiento sencillo, ampliamente extendido y con pocas fuentes de error, sería de utilidad en futuros experimentos, conocer mediante otros métodos analíticos (DBO₅ p.ej) la cantidad exacta de materia orgánica presente en el agua susceptible de ser asimilada por las bacterias exoelectrogénicas ya que en el agua residual urbana, de forma general, esta materia orgánica fácilmente biodegradable es solo una parte (habitualmente el 60%) de la materia orgánica detectada con la DQO.

7. Conclusiones

Las conclusiones de los experimentos llevados a cabo a lo largo de este trabajo se exponen a continuación respondiendo a cada objetivo específico planteado.

Objetivo específico 1

Se determinó que el material óptimo para las pilas microbianas implementadas era el grafito granular. Los resultados para la optimización del cátodo, mostraron densidades de corriente superiores a la antracita y muy superiores, a otros materiales como la grava y la escoria metálica.

Por otra parte, la tipología de pila multi-ánodo implementada en este trabajo, demostró su aplicabilidad para bio-indicación. Con esta nueva configuración, es posible utilizar los ánodos que forman la pila como sensores, ya que las lecturas de voltaje son obtenidas entre cada ánodo y el cátodo común a todos ellos.

Objetivo específico 2

El adquirente de datos llevado a cabo, ha demostrado su eficacia, cumpliendo con los parámetros de funcionalidad exigidos en la fase de conceptualización del mismo. Mediante el empleo de este, se ha podido responder al [objetivo específico 4](#) de este trabajo.

Paralelamente se ha avanzado en la aplicabilidad real de las pilas microbianas, ya que el coste de los adquirentes de datos presentes en el mercado con características semejantes no baja de los 1000€ y en este caso el presupuesto no superó los 40€.

Objetivo específico 3

Los resultados obtenidos de utilizar los ánodos de pila microbiana como sensores de flujo hidráulico, son coherentes con la arquitectura y la disposición de la entrada/salida del humedal donde se instalaron. La dinámica que sigue la producción eléctrica encaja perfectamente con la hipótesis de flujo planteada, con una fuerte estratificación vertical y reparto casi equitativo respecto al eje transversal. Esto es indicador de que el fenómeno que domina la producción eléctrica en una determinada zona es el caudal de agua residual que la atraviesa.

Se observaron muy claramente dos zonas poco activas eléctricamente situadas a extremos opuestos del humedal y una zona central con un reparto de actividad eléctrica variable en altura según la cercanía al flujo principal formado por la diagonal entre la entrada y la salida de agua.

El modelo planteado a partir de los datos de producción eléctrica, deberá ser validado mediante un estudio de trazadores más adelante. No obstante, la contundencia de los resultados del

experimento y los parámetros obtenidos de la simulación de este modelo en AQUASIM, permiten ser optimistas de cara a esta futura validación.

Objetivo específico 4

El sistema formado por pilas microbianas modulares y el adquisidor de datos, ambos diseñados a lo largo de este trabajo, ha demostrado ser una herramienta con muy buena aplicabilidad en el campo de la bio-indicación de aguas residuales. Los parámetros basados en la capacitación eléctrica del biofilm, y la cantidad de materia orgánica medida en laboratorio han mostrado una relación de linealidad ($R^2 = 0.89 - 0.99$), en todos los experimentos, lo que sumado al bajo coste y la facilidad de interpretación de los resultados augura un futuro prometedor para el desarrollo de la técnica.

8. Referencias

García, J. et al. (2003) 'Spatial variations of temperature, redox potential, and contaminants in horizontal flow reed beds', *Ecological Engineering*, 21(2–3), pp. 129–142.

García, J. et al. (2010) 'Contaminant removal processes in subsurface-flow constructed wetlands: A review', *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, pp. 561–661.

Garcia, J. and Corzo, A. (2008) 'Depuración con Humedales Construidos', *Universidad Politecnica de Cataluña*, pp. 1–96.

Corbella, C. and Puigagut, J. (2018) 'Improving domestic wastewater treatment efficiency with constructed wetland microbial fuel cells: Influence of anode material and external resistance', *Science of the Total Environment*, 631–632, pp. 1406–1414.

Corbella, C. et al. 2019 'MFC-cased biosensors for domestic wastewater COD assessment in constructed wetlands. *Science of the Total Environment* 660, 218-226.

Puigagut, J. et al. (2007) 'Subsurface-flow constructed wetlands in Spain for the sanitation of small communities: A comparative study', *Ecological Engineering*, 30(4), pp. 312–319.

Kadlec, R. H. and Wallace, S. D. (2009) *Treatment Wetlands*, Second Edition. Second Edi, *Treatment Wetlands*, Second Edition. Second Edi. doi: 10.1201/9781420012514.

Vymazal, J. (2011) 'Constructed wetlands for wastewater treatment: Five decades of experience'. *Environmental Science and Technology*, 45(1), pp. 61–69.

Gikas, G.D. et al. (2017) 'Evaluation of clogging in HSF pilot-scales CWs using tracer experiments', *European Water* 58: 179-184.

Logan, B. E. et al. (2006) 'Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology', *Environmental Science & Technology*, 40(17), pp. 5181–5192.

Peixoto, L. et al. (2011) 'In situ microbial fuel cell-based biosensor for organic carbon'. *Bioelectrochemistry*, 81(2), pp. 99–103.

Chae, K., Choi, M., Lee, J., & Kim, I. (2009). Effect of different substrates on the performance, bacterial diversity, and bacterial viability in microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, 100(14), 3518-3525.

Guerrini, E., Cristiani, P., & Trassatti, S. (2013). Relation of anodic and cathodic performance to pH variations in membraneless microbial fuel cells. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(1), 345-353.

Rabey, k., Rodriguez, J., Blackall, L., Keller, J., Gross, P., Batstone, D., et al. (2007). Microbial ecology meets electrochemistry: electricity driven and driven communities. *Applied Energy*, 88, 3999-4004.

Kaku, N., Yonezawa, N., Kodama, Y., & Watanabe, K. (2008). Plant/microbe cooperation for electricity generation in a rice paddy field. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79(1), 43-49.

Yadav, A., Dash, P., Mohanty, R., Abbassi, R., & Mishra, B. (2012). Performance assessment of innovative constructed wetland-microbial fuel cell for electricity production and dye removal. *Ecological Engineering*, 47, 126-131.

García, J. et al. (2003) 'Spatial variations of temperature, redox potential, and contaminants in horizontal flow reed beds' , *Ecological Engineering*, 21(2-3), pp. 129-142.

Logan, B. E. and Rabaey, K. (2012) 'Conversion of wastes into bioelectricity and chemicals by using microbial electrochemical technologies' , *Science*, 337(6095), pp. 686-689.

RD 509/1996

Jouanneau, S. et al. 2014 'Methods for assessing biochemical oxygen demand (BOD): a review'. *Water Res.* 49, 62-68.

Chang, I.S. et al. 2004 'Continuous determination of biochemical oxygen demand using microbial fuel cell type biosensor.' *Biosens. Bioelectron.* 19, 607-613.

Kim, B.H. et al. 2003. Novel BOD (biological oxygen demand) sensor using mediator-less microbial fuel cell 541-545.

Sim, J. et al. 2018. 'Semi-continuous measurement of oxygen demand in wastewater using biofilm-capacitance. *Bioresource Technology Reports* 3. 231-237.

APHA-AWWA-WEF (2012) Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. Washington, D.C.: American Public Health Association.

9. Agradecimientos

Me gustaría agradecer a todo el Grupo de Investigación GEMMA por haberme permitido llevar a cabo este trabajo y en especial a mi tutor Jaume y mis compañeros, Marta, Marco y Diego. A mi familia también por haberme apoyado en todo lo que he hecho y a Inés y Trufa por hacerlo todos los días.